

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

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета

Издание второе, дополненное



Минск БГМУ 2008

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

Утверждено Научно-методическим советом университета в качестве практикума
30.04.2008 г., протокол № 8

А в т о р ы: доц. Т. А. Канашкова (занятия 1–37); доц. Д. А. Черношей (занятия 10–13, 15–18, 29, 31–36); доц. В. А. Горбунов (занятия 1–8, 19–36); доц. И. А. Крылов (занятия 21–22, 31–37); доц. Л. И. Каскевич (занятия 1–6, 10–13, 19–20, 23–25, 27–29)

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

Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : практикум для
М стоматфака / Т. А. Канашкова [и др.]. – 2-е изд., доп. – Минск : БГМУ, 2008. – 118 с.
42

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. Во втором издании (1-е вышло в 2007 г.) добавлено приложение 6.

Предназначено для студентов стоматологического факультета.

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

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

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

Коллектив авторов

Список сокращений:

АПК	-	Антигенпрезентирующие клетки		ЛПС	-	Липополисахарид
АТ	-	Антитела		МИК (МПК)	-	Минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
АТФ	-	Аденозинтрифосфорная кислота		МПА	-	Мясопептонный агар
ВБИ	-	Внутрибольничная инфекция		МПБ	-	Мясопептонный бульон
ВИЧ	-	Вирус иммунодефицита человека		ПЗФ	-	Показатель завершенности фагоцитоза
ВОЗ	-	Всемирная организация здравоохранения		ПЦР	-	Полимеразная цепная реакция
ГКГС	-	Главный комплекс гистосовместимости		РГА	-	Реакция гемагглютинации
ГСИ	-	Гнойно-септическая инфекция		РИФ	-	Реакция иммунофлюоресценции
ДНК	-	Дезоксирибонуклеиновая кислота		РН	-	Реакция нейтрализации
ЕК	-	Естественные киллеры		РНГА (РПГА)	-	Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
ЖКТ	-	Желудочно-кишечный тракт		РНК	-	Рибонуклеиновая кислота
ЖСА	-	Желточно-солевой агар		РОК	-	Розеткообразующие клетки
ИЛ	-	Интерлейкин		РСК	-	Реакция связывания комплемента
ИФА	-	Иммуноферментный анализ		РТГА	-	Реакция торможения гемагглютинации
ИФН	-	Интерферон		РТГАдс	-	Реакция торможения гемадсорбции
КАР	-	Киллинг-активирующие рецепторы		ТКР	-	Т-клеточный рецептор
КИО	-	Клеточный иммунный от-		УПМ	-	Условно-патогенный


		вет			микроорганизм
КОЕ	-	Колониеобразующая единица		ФНО	- Фактор некроза опухолей
КУА	-	Казеиново-угольный агар		ФП	- Фагоцитарный показатель
КЦЖХ	-	Короткоцепочечные жирные кислоты		ФЧ	- Фагоцитарное число
ЛБТА	-	Лактозобромтимоловый агар		ЦПД	- Цитопатическое действие
ЛП	-	Липопротеин			

Репозиторий БГМУ

**Занятие № 1.: Методы исследования в микробиологии.
Бактериоскопический метод исследования.
Характеристика основных форм бактерий.
Простые методы окраски.**

<p>Перечень изучаемых вопросов: История кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 26-32; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)
--	--

Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

<p>ИНСТРУКЦИЯ</p> <p>по технике безопасности для студентов, работающих на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Студенты, находящиеся в лаборатории, должны быть в халатах и шапочках. 2. Не допускаются излишние разговоры и хождения. 3. Каждый студент должен пользоваться толь- 	<p>Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования</p> <p>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</p>
--	--

ко 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 спиртовок (горелок), обжигая при этом края пробирок, петли, шпатели и пр.
9. Пробирки, колбы, флаконы и пр., в которые в процессе работы помещается инфицированный материал, немедленно подписываются с указанием характера материала, названия и номера культуры и даты.
10. Если заразный материал попал на окружающие предметы, необходимо немедленно произвести тщательную дезинфекцию, залить это место дезинфицирующим раствором, а затем, если это возможно, прожечь тампоном с горящим спиртом.
11. Предметы, посуду, материал, инфицированные во время работы, собирают в баки или ведра, закрывают и в тот же день стерилизуют.
12. Культуры, если это необходимо, хранят в агаровых столбиках под маслом в закрытых пробирках с этикетками.
13. После работы все материалы и культуры должны быть убраны, рабочее место приведено в полный порядок.
14. Ежедневная тщательная уборка помещения производится влажным путем с применением дезинфицирующих средств.

определение чистоты выделенной чистой культуры. В лабораторной практике используют следующие типы микроскопических препаратов: а) бактериологический мазок (фиксированный мазок); б) «висячая» капля; в) «раздавленная» капля; г) тонкий мазок; д) «толстая» капля; ж) препарат-отпечаток, з) тушевой препарат.

Этапы метода:

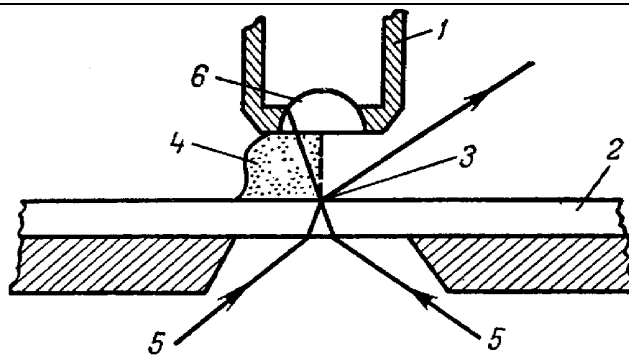
1. Забор материала (гной, мокрота, кровь, моча, испражнения, промывные воды бронхов и желудка, ликвор, содержимое полостей носа, вагины, трупный материал и др.).
2. Транспортировка материала, хранение, подготовка к исследованию.
3. Приготовление микропрепарата.
4. Микроскопия.
5. Заключение.

Приготовление фиксированного мазка:

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

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

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



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

Рассчит
вого ми
мерсион

Разреша
 λ (длина
n - показ
ратом и
 α - поло

$\lambda = 0,55 \mu$
 $n \times \sin \alpha$

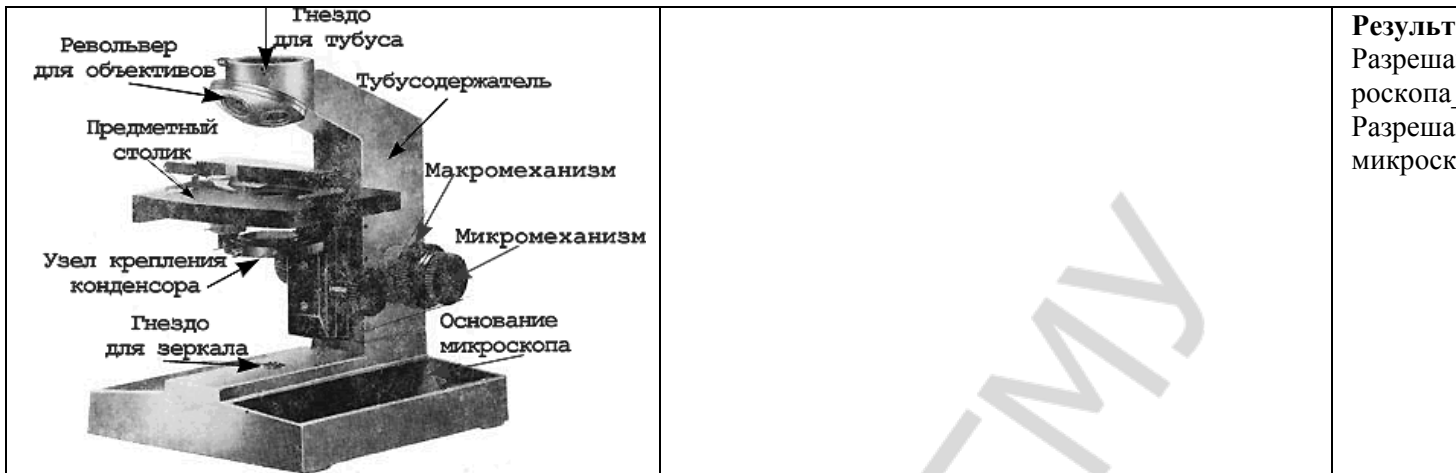


Рис. 1. Устройство светового микроскопа (слева), схема лучей в иммерсионной системе (справа).

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

Занятие № 2.: Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски.









<p>Перечень изучаемых вопросов: Отличия прокариотов от эукариотов. Структура поверхностных образований бактериальных клеток: капсулы, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, жгутиков, фимбрий. Методы их выявления. Грамположительные и грамотрицательные микробы. Техника и механизм окраски по Граму. Методы обнаружения капсул.</p> <p>Структура цитоплазматических образований бактериальных клеток (нуклеоида, включений). Методы выявления нуклеоида, волютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру.</p> <p>Кислотоустойчивость бактерий, методы ее выявления. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 19-30; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
---	---

Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.

<p>В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окрашивания по методу Грама? Раскрасьте таблицу.</p>					<p>Нарисуйте варианты р...</p> <p style="text-align: right; font-size: small;">монот...</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 5px auto;">Бактери...</div> <p style="text-align: right; font-size: small;">амфит...</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 5px auto;">Бактери...</div>
Бактерии	После окрашивания генциан-виолетом	После обработки р-ром Люголя	После обработки 96 ⁰ этанолом	После окрашивания фуксином	
Грамположительные					
Грамотрицательные					

Структура, функции поверхностных образований бактериальной клетки				Особенности строения грамположительных Компоненты клеточной стенки Пептидогликан Тейхоевые к-ты Липополисахариды Полисахариды Белки Липиды Обозначения: (-) — от всех видов.
Поверхностные образования	Строение	Функции	Методы выявления	
Капсула				
Клеточная стенка				
Жгутики				
Фимбрии (пили)				
Структура, функции цитоплазматических образований бактериальной клетки				В какие цвета окрасителю Циля-Нильсена Бактерии Кислотоустойчивые Некислотоустойчивые
Образования ЦПМ Нуклеоид Плазмиды Мезосомы Рибосомы Включения	Строение	Функции		

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 грамовариательно.

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 докрасивают метиленовым синим 3-5 мин.
4. Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

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

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

Окраска по Леффлеру. Для выявления зерен волютина.

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

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

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

Окраска по Нейссеру. Для выявления зерен волютина.

1. На фиксированный мазок наносят ацетат синьки Нейссера – 2 мин., промывают водой;
2. Наносят раствор Люголя- 30 секунд, промывают водой;
3. Везувин (или 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 микробов с каплей туши и при помощи шлифованного края готовят препарат так же, как и мазок крови.
- Препарат высушивают и фиксируют в пламени;
- На остывшее стекло наливают 1% водный раствор фуксина на 3-5 минут, промывают водой, высушивают на фильтровальной бумаге, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

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

Укажите названия структур

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

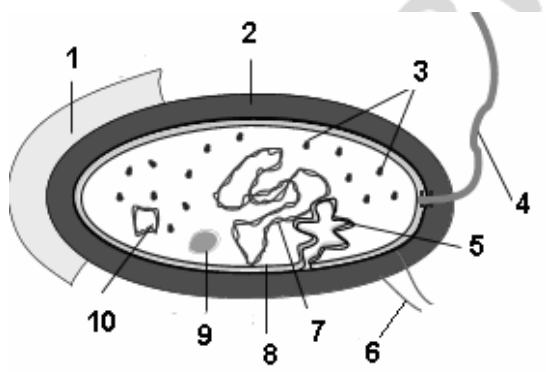


Рис.2. Принципиальная схема строения гетеротрофной прокариотической клетки.

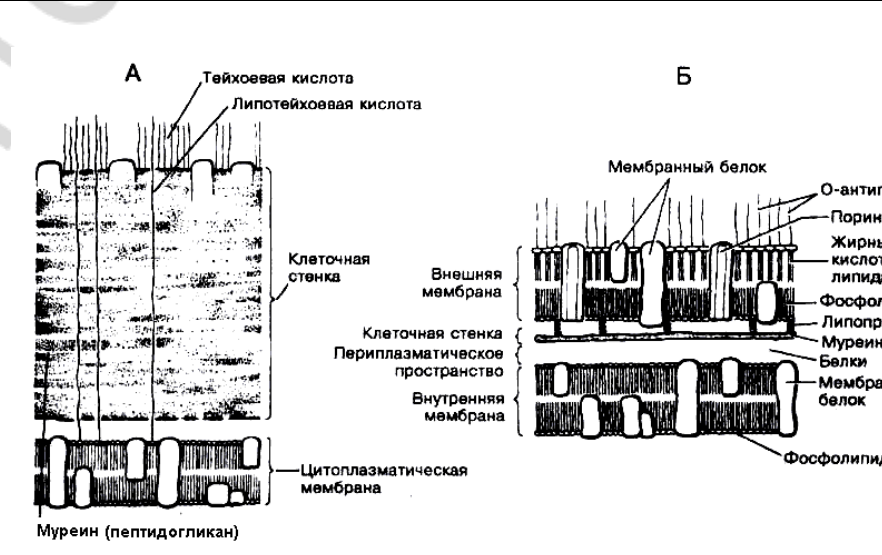


Рис. 2. Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий.

**Занятие № 3: Бактериоскопический метод исследования.
Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий,
хламидий, микоплазм.**

<p style="text-align: center;">Перечень изучаемых вопросов:</p> <p>Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Фазово-контрастная микроскопия. Покоящиеся формы бактерий. Споры, методы их выявления.</p> <p>Систематическое положение и морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм. Окраска по Романовскому-Гимзе. Темнопольная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 28-30; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
---	---

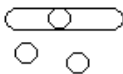
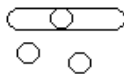
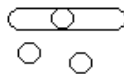
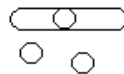
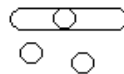
Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 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 лишённые клеточной стенки, не способны к размножению.

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

L-формы - это бактерии, полностью или частично лишённые 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% сопри при подогревании, промывание и фиксация метиленовым синим;

2. Затем окраска по Цилю-Нильсену (см. При микроскопии споры ярко-красного цвета, вегетативные тела бактерий – голубого (синего) цвета).

Спорообразование у бактерий.

Для спорообразующих бактерий характерно образование в цитоплазме круглой или овальной споры. Спорообразование - это способ сохранения бактерии в неблагоприятных условиях окружающей среды. Спора образуется в результате деления вегетативной клетки. Спора образуется в течение 18-20 часов и может развиваться в течение 4-5 часов. Спора может быть центральной, утолщённой, утолщённой или субтерминальной. Прорастание споры занимает 4-5 часов.

Стадии спорообразования.

1. Подготовительная. В цитоплазме образуется уплотнённый участок, не имеющий собственной мембраны («спорогенная зона»), в которой содержится ДНК.

2. Стадия предспоры (проспоры). Вокруг споры образуется оболочка из двойной мембраны (цитоплазматической мембраны).

3. Образование кортекса, состоящего из пептидогликана и наружной мембраны с повышенным содержанием солей кальция и липидов.

4. Стадия созревания. С внешней стороны мембраны образуется оболочка спорогенной вегетативной части клетки лизирующей мембраны.

Споры очень устойчивы во внешней среде. Устойчивость обусловлено:

1. Низким содержанием воды, которая связана в связанном состоянии;

2. Повышенным содержанием солей кальция и липидов;

3. Многослойностью оболочки.

Споры можно обнаружить в клетках с помощью окраски по методу Ожешко или с помощью дифференциальной контрастной микроскопии.

Примеры спорообразующих бактерий: *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *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

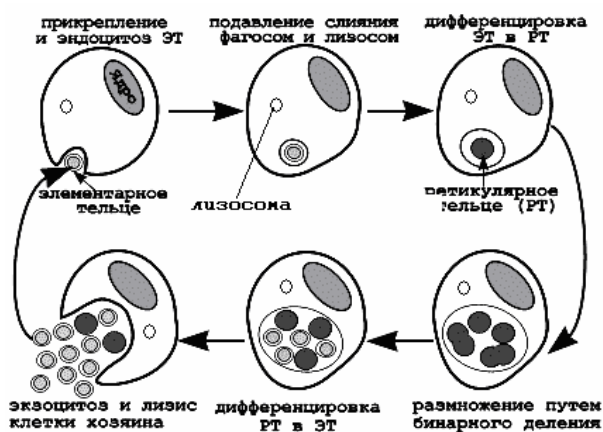


Рис. 4. Репликативный цикл хламидий.

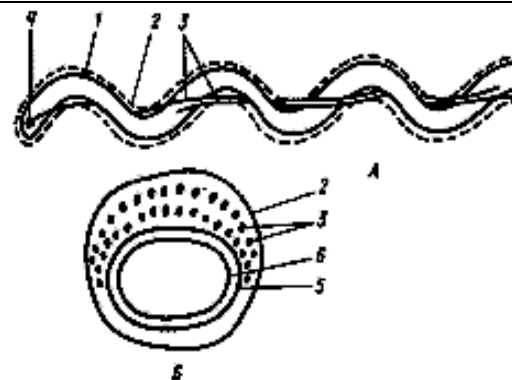


Рис. 5. Клетка спирохеты в продольном (А) и поперечном (Б) разрезе. На рис. А изображена клетка, содержащая по одной аксиальной фибрилле на каждом конце; на рис. Б — поперечный разрез, прошедший через среднюю часть клетки, в которой видны два пересекающихся пучка, состоящих из множества аксиальных фибрилл: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

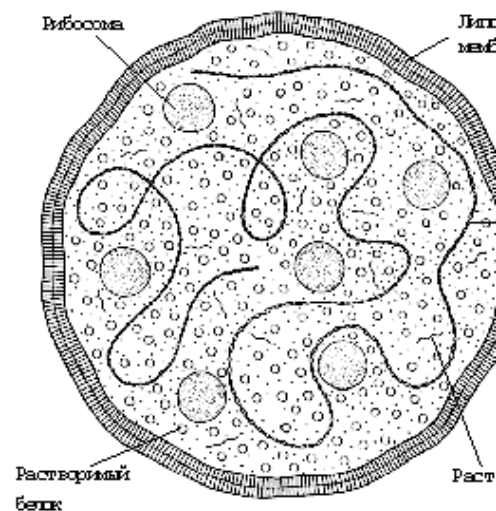


Рис. 6. Структура клетки микоплазмы.

Занятие № 4.: Экология микробов. Методы стерилизации и дезинфекции.

Асептика, антисептика.

Перечень изучаемых вопросов: Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногенности. Противомикробные мероприятия. Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Применение в стоматологической практике.

Термические, механические, химические и другие методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы.

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

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] С. 57-68; [2], [5] – (учебники),
3. [3], [6] – (практикумы),
4. [7], [9], [10] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить опыт по антисептике.</p>	<p>Опыт по антисептике:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Отпечаток кожи без обработки (контроль); 2. Мытье водой с мылом – отпечаток (опыт 1); 3. Обработка антисептиком (1% раствор йодоната); 4. Обработка нейтрализатором (1% раствор тиосульфата натрия); 5. Отпечаток (опыт 2). <p>Учет результатов (на следующем занятии):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Просмотреть чашку в зоне отпечатков: <ul style="list-style-type: none"> а) подсчитать число колоний в каждой зоне б) отметить характер колоний в каждой зоне (определить число разновидностей колоний по форме, размеру, окраске, прозрачности, краям) 2. Приготовить мазки с окраской по Граму из характерных (доминирующих) колоний 3. Сформулировать выводы: <ul style="list-style-type: none"> - об эффективности механической (мытьё рук с мылом) и химической антисептики (по изменению обсемененности кожи (по сравнению с контролем) - о влиянии метода антисептики на состав флоры кожи рук (на основании морфологии) <p style="text-align: right;">Схема постановки опыта</p>
<p>2. Поставить опыт по антисептической обработке полости рта</p>	<p>Схема проведения опыта по антисептической обработке полости рта:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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: <ul style="list-style-type: none"> а) приготовить 4 пробирки с 4,5 мл стерильного физраствора, подписать 1К, 2К, 3К, 4К; набрать 0,5 мл материала из чашки «Контроль» и выпустить в пробирку 1К. Сбросить пипетку в фарфоровую чашку, другой пипеткой перемешать содержимое пробирки 1К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 2К. Сбросить пипетку в фарфоровую чашку, новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 2К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 3К. Сбросить пипетку в фарфоровую чашку, новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 3К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 4К. Сбросить пипетку в фарфоровую чашку. б) аналогично приготовить разведения материала «опыт». 6. С помощью стерильной пипетки и груши произвести посев разведений на сахарный бульон: <ul style="list-style-type: none"> - 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. <p>Учет (на следующем занятии):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Просмотреть пробирки с сахарным бульоном и определить максимальное разведение, посев из которого даст наибольшее количество колоний 2. Сформулировать заключение об эффективности обработки полости рта 1% раствором борной кислоты из разных разведений.

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

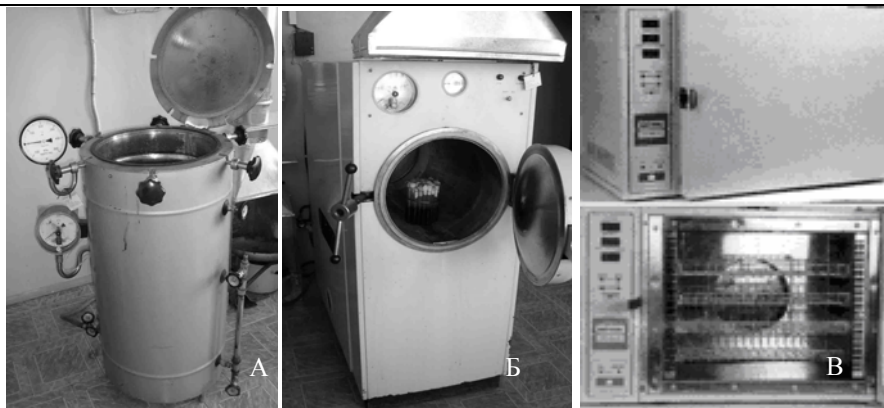


Рис. 7. Стерилизаторы: паровые (автоклавы) ВК-75 (А) и ГК-100 3М (Б), суховоздушный - вид снаружи и изнутри (В)
Подпись преподавателя

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 свыше 60° С	

Противомикробные мероприятия
ния, подавления жизнедеятельности в окружающей среде потенциально патогенных микроорганизмов с целью предупреждения развития инфекции. Совокупность строго регламентированных мероприятий по выполнению противомикробных мероприятий в детских или иных учреждениях и при оказании медицинской помощи называется **противомикробным режимом**.

Стерилизация - совокупность физических и химических методов, обеспечивающих полное освобождение объектов внешней среды от находящихся форм патогенных, условно патогенных микроорганизмов.

Дезинфекция. Под дезинфекцией понимают уничтожение, подавление или инактивацию патогенных для человека микроорганизмов в окружающей среде с целью предупреждения передачи возбудителей инфекционных заболеваний здоровым людям.

Антисептика. Под антисептикой понимают уничтожение или подавление жизнедеятельности патогенных для здоровья человека микроорганизмов на неповрежденной коже, слизистых оболочках и слизистых поверхностях (профилактическая антисептика) и на открытых поверхностях (лечебная антисептика) инфекционных процессов.

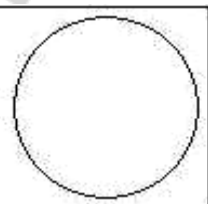
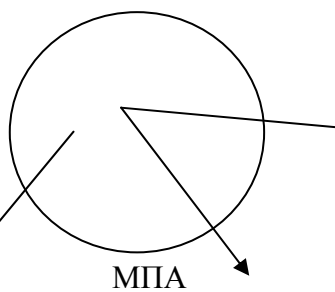

Асептика. Асептика - это совокупность мероприятий, направленных на предупреждение инфицирования во время медицинских вмешательств, а также предотвращения распространения микробного процесса при микробиологических исследованиях в водстве различных материалов.

Занятие № 5.: Культуральный (бактериологический) метод исследования.

Методы выделения чистых культур бактерий.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Методы культивирования микроорганизмов (бактерий, риккетсий, хламидий, микоплазм).</p> <p>Питательные среды, общая характеристика и классификация. Требования, предъявляемые к питательным средам. Принципы приготовления. Условия выращивания микробов. Термостат.</p> <p>Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.</p> <p>Методы и аппаратура для создания анаэробноза.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 38-46; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																								
<ol style="list-style-type: none"> 1. Учет опытов по антисептике (см. занятие № 4) 2. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов): <ul style="list-style-type: none"> • охарактеризовать колонии, • определить морфологию и чистоту культуры, произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры. 	<div style="text-align: center;">  <p>Взятие материала, доставка в лабораторию, микроскопия, посев</p> </div> <p style="text-align: center;">II этап бактериологического исследования (выделение чистых культур)</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="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> </div>	Признак	Колония №1	Колония №2	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция			Прозрачность		
Признак	Колония №1	Колония №2																							
Форма																									
Размер																									
Поверхность																									
Край																									
Цвет																									
Консистенция																									
Прозрачность																									

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.

Классификация питательных сред

А) По происхождению:

1) естественные - натуральные продукты питания (мясо, молоко, картофель);

2) искусственные - приготовленные специально для выращивания микроорганизмов:

- среды из естественных продуктов (мясная вода, мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), не имеют постоянного состава;

- синтетические питательные среды - растворы строго определенных количеств солей, аминокислот, азотистых оснований, витаминов в дистиллированной воде - имеют постоянный состав, используются для выращивания микроорганизмов и культур клеток при получении вак-

Культуральный метод исследования

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

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

Этапы метода:

1. Забор материала для исследования, транспортировка, хранение, подготовка, микроскопия, посев на питательные среды с целью выделения чистых культур бактерий Вид исследуемого материала зависит от цели исследования (диагностика - от больного; эпиданализ - из внешней среды, про-

цин, иммунных сывороток и антибиотиков;

Б) По назначению:

1) общего назначения (МПБ, МПА) - на них растет большинство микробов;

2) селективные - избирательно способствуют росту одного вида микробов из смеси (например, солевой агар для стафилококков);

3) дифференциально-диагностические – предназначены для индикации и дифференциации отдельных типов, видов и групп бактерий:

- Содержащие белки, дающие характерные изменения под действием ферментов бактерий (напр., кровяной агар, молоко и др.);

- Содержащие индикаторы, углеводы или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу рН и изменению окраски среды (напр., среды Гисса, среды Эндо, Левина и др.);

- Среды для определения редуцирующей способности (напр., среды с красителями, обесцвечивающимися при восстановлении и др.);

- Среды, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий (напр., цитратный агар Симмонса и др.).

В) По консистенции:

1) жидкие;

2) полужидкие (при добавлении агар-агара в концентрации 0,5-0,7%);

3) плотные - свыше 1%.

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

1) обогащения - подавляют рост микробов, сопутствующих возбудителю;

2) выделения чистой культуры (для получения изолированных колоний);

3) накопления чистой культуры.

дуктов питания, больного и (или) бактерионосителя). Посев материала (после предварительной микроскопии) на чашку с плотной питательной средой (лучше дифференциально-диагностической или селективной) с целью получения изолированных колоний. Производят его чаще всего методом механического разобщения. В некоторых случаях (например, кровь) материал предварительно засевают в жидкую среду обогащения с последующим пересевом на чашку с агаровой средой. Иногда до посева проводят селективную обработку материала (с учетом свойств выделяемого микроорганизма; например, обработка кислотой или щелочью для выделения устойчивых бактерий). Культивируют при температуре 37°C в течение 18-24 часов. Время культивирования для разных видов бактерий может колебаться.

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

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

Оценка метода:

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

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

- посев материала на чашки Петри шпателем или петлей;
- посев разведений материала - готовят десятикратные разведения материала в расплавленном и остуженном до 45°C МПА, затем выливают содержимое пробирок в стерильные чашки Петри, дают агару застыть и инкубируют чашки в термостате;
- разобщение на основе подвижности микробов. Материал засевают в каплю конденсационной жидкости скошенного МПА. При этом подвижные микробы как бы «мигрируют» вверх по агаровому скоосу и располагаются в верхней части агара. При 2-3-кратном пассировании этих колоний в конденсационную жидкость скошенного агара удается получить чистую культуру подвижного микроба (например, протей);
- 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 дейст-

Методы создания анаэробных условий (для выделения чистых культур анаэробов)

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

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

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

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

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

Питательные среды для создания анаэробных условий:



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

ОТВЕТ: _____

вием 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;

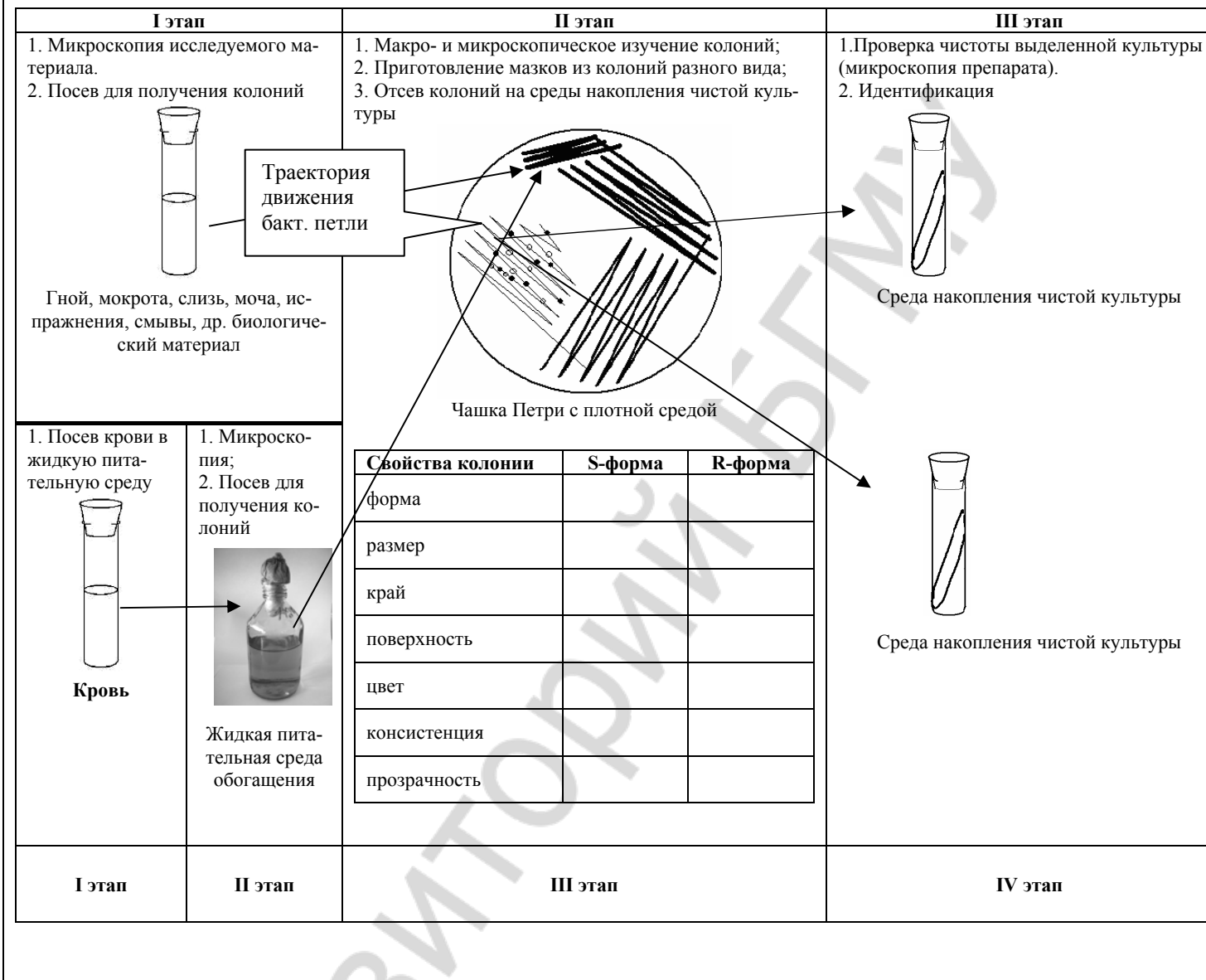
б) кислоты - при обработке смесей кислотоустойчивых и неустойчивых к кислотам микробов последние гибнут, а кислотоустойчивые остаются, как правило, в чистой культуре. Так выделяют возбудителя туберкулеза;

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.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

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

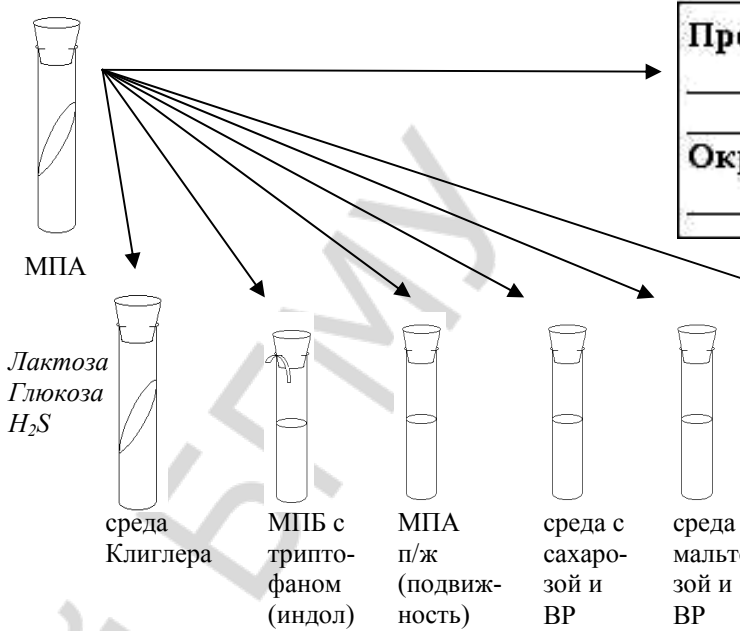


Занятие № 6.: Культуральный (бактериологический) метод исследования.

Методы идентификации чистых культур бактерий.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид у микробов, критерии вида.</p> <p>Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации:</p> <p>а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы);</p> <p>б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза);</p> <p>в) липолитические (липаза, лецитиназа)</p> <p>г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза);</p> <p>д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.</p> <p>Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 38-46; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

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

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

Цвета некоторых индикаторов pH

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



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

липидов и липоидов.

Ферменты-токсины:

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

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

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

Оксидоредуктазы:

1. Определение *оксидаз*. На фильтровальную бумагу, смоченную 1% раствором тетраметилпарафенилендиамина, петель 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.

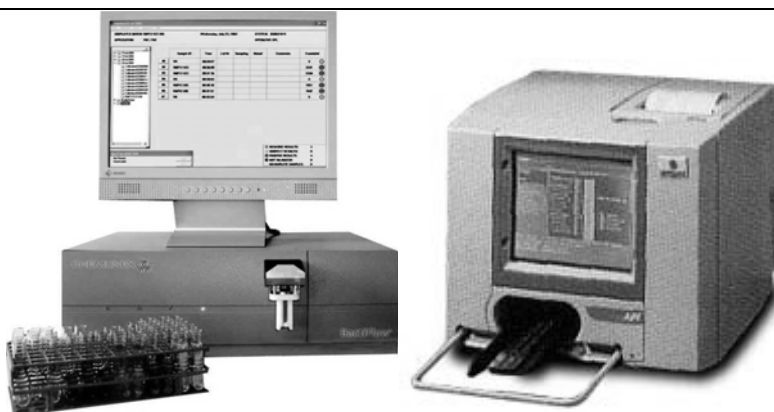


Рис. 10. Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Критерии вида				
морфологический	культуральный	биохимический	серологический	биологический
<ul style="list-style-type: none"> • форма, • размер, • взаимное расположение, • подвижность, • капсулообразование, • спорообразование, • включения, • тинкториальные свойства, • кислотоустойчивость 	<ul style="list-style-type: none"> • рост на специальных средах, • условия роста и размножения, • характер роста в жидкой среде: диффузное помутнение, пленка, придонный рост и др., • характер колоний: форма, размер, цвет, поверхность, край, консистенция, прозрачность и др. 		<ul style="list-style-type: none"> • определение антигенной структуры (взаимодействие со специфическими сыворотками) 	<ul style="list-style-type: none"> • вирулентность для животных, • токсигенность, • чувствительность к бактериофагам, • чувствительность к антибиотикам
		ферменты		профиль жирных кислот (для анаэробов)
протеолитические	сахаролитические	липолитические	окислительно-восстановительные	ферменты-токсины
<ul style="list-style-type: none"> • протеазы, • протеиназы, • аминопептидазы, • карбоксипептидазы, • декарбоксилазы, • триптофаназы, • десульфуразы, • уреазы 	<ul style="list-style-type: none"> • амилазы, • целлюлазы, • карбогидразы (сахараза, мальтаза, лактаза и др.) 	<ul style="list-style-type: none"> • липазы, • лецитиназы 	<ul style="list-style-type: none"> • оксидазы, • каталазы, • дегидразы, • пероксидазы 	<ul style="list-style-type: none"> • гемолизины, • плазмокоагулазы, • лецитиназы, • гиалуронидазы, • ДНК-азы, • РНК-азы

Занятие № 7.: Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации и генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция и конъюгация. Принцип генетического анализа (см. методичку).</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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 74-81; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10], [12] – (доп. литература).
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты			
	Вид	Морфология	Культуральные	
<p>1. Идентификация чистой культуры (учёт):</p> <ul style="list-style-type: none"> • осуществить учёт результатов биохимических тестов, • провести интерпретацию результатов, сделать заключение. 				
<p>2. Поставить опыт конъюгации:</p> <ul style="list-style-type: none"> • инкубировать смесь культур <i>E. coli</i> донора и реципиента, • сделать высев на минимальную среду. 	<p><i>E. coli</i> D (донор) F⁺ tre⁺ leu⁺ str^s</p>		<p><i>E. coli</i> R (реципиент) F⁻ tre⁻ leu⁻ str^R</p>	
	<p>Минимальная среда без треонина и лейцина, стрептомицин 100 мкг/мл.</p> <p style="text-align: right;">Рекомбинант tre leu str</p>			
	<p>Учет результатов (после 24 ч. инкубации при 37 °С).</p> <p>Заключение:</p>			

<p>3. Поставить ПЦР для обнаружения ДНК <i>M.tuberculosis</i> в бронхо-альвеолярном 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"> 1. Выделение ДНК: <ul style="list-style-type: none"> • Маркировка пробирок для выделения ДНК (эппендорфы на 1,5 мл с записи и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК). • Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской). 2. Постановка ПЦР: <ul style="list-style-type: none"> • Приготовление реакционной смеси: • Маркировка пробирок для ПЦР (маленькие эппендорфы на 0,5 мл с записи). • Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения ДНК. • Амплификация (демонстраторий), 1 час. 3. Детекция: электрофорез в геле (демонстраторий, 20 мин), просмотр на трансиллюминации. 4. Учет и оценка результата.
<p>Демонстрация.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Метод реплик. 	<p>Метод реплик позволяет осуществить одномоментный посев нескольких исследуемых культур бактерий с помощью специальных штампов-репликаторов.</p> <p>Штамп состоит из основания с 25 или 50 лунками для заливки культур и верхней части (крышки), имеющей соответственно 25 или 50 штифтов, которые при накладывании крышки на основание входят в лунки.</p> <p>Суспензии испытуемых культур последовательно вносят в лунки штампа. Затем накладывают крышку на основание штампа так, чтобы штифты вошли в лунки и смочились культурой. Посев производят путем прикосновения (отпечатывания) нижних концов штифтов к поверхности плотной среды в чашке Петри.</p>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.

РЕПОЗИТОРИЙ

**Сравнительная характеристика методов типирования
возбудителей инфекций**

Метод типирования	Доля типированных штаммов	Воспроизводимость	Разрешающая сила	Легкость	
				интерпретации	выполнения
Фенотипические:					
Биотипирование	Все	2	2	5	5
Резистентипирование	Все	3	2	5	5
Серотипирование	Большинство	4	3	4	3
Фаготипирование	Большинство	3	3	3	2
Иммуноблоттинг	Все	4	4	3	4
МЭЭ (мультилокусный энзимэлектрофорез)	Все	5	4	5	4
Генотипические:					
Плазмидный анализ	Большинство	4	4	4	5
Рестрикционный анализ хромосомной ДНК	Все	4	4	2	5
Риботипирование	Все	5	3	4	4
Пульс-электрофорез	Все	5	5	5	4
ПДРФ-ПЦР	Все	5	4	5	4
ПП-ПЦР	Все	4	4	3	4
Секвенирование (анализ нуклеотидной последовательности)	Все	5	5	5	3

Примечание: «2» – плохо, «3» – удовлетворительно, «4» – хорошо, «5» – отлично.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Принцип ПЦР был описан в 1986 г. Сущность ПЦР заключается в амплификации или образовании множественных копий, интересующих участков ДНК/РНК (как правило, размером до 5000 п.о.) путем увеличения размера фрагмента, что приводит к снижению эффективности реакции). В качестве амплифицируемых участков ДНК могут выступать гены патогенности, жизненно важные функции, устойчивости к противомикробным препаратам, видо- и родоспецифичные гены др.

На первой стадии ПЦР осуществляется выделение ДНК/РНК из клеток, параллельно на этом этапе удаляются и клеточные ингибиторы ПЦР. Далее на выделенной ДНК-матрице происходит синтез множественных копий ДНК, поэтому важным условием проведения ПЦР является присутствие строительного материала ДНК – дНТФ (дезоксинуклеотидтрифосфатов и фермент осуществляющего полимеризацию – Taq-полимеразы (выделяются из термофильных микроорганизмов *Thermophilus aquaticus*). Как и любой другой фермент, Taq требует определенных условий – pH, концентрации ионов, что достигается внесением в реакцию определенной смеси буфера для Taq и MgCl₂. Как правило, эффективно амплификация происходит в отношении не только бактериальной ДНК, но и лишь фрагментов длиной до 5000 п.о., поэтому специфический участок ДНК для амплификации

ограничивается с дв
сторон праймера
(прямым и обратным
цепочками нуклеотид
(до 15-30 основани
связывающимися с ко
плементарными стр
турами исследуем
ДНК.

ПЦР являет
многостадийным пр
цессом, заключающ
ся в: 1) образовании
двухцепочечной Д
одноцепочечной мо
кулы (денатурация);
ограничении амплиф
цируемого фрагмен
путем присоединен
прямого и обратн
праймера (отжиг);
полимерезации доч
них цепочек на ДН
матрице (элонгаци
Каждая из этих стад
протекает при опре
ленной температу
Реакцию амплификац
повторяют 20-45 р
предваряя ее допол
тельной денатурацией
заканчивая допол
тельной элонгацией.

В результате ПЦР пр
исходит экспоненци
альное увеличение ко
пий ДНК (ампликоно
Образование огромно
количества копий (10^6
позволяет выявлять и
путем электрофореза
агарозном или акрила
мидном геле с после
дующей окраской ДН
красителем - этидием-
бромидом, флюоресци
рующим в УФ-свете
(290 нм) трансиллюми
натора. Фрагменты Д
в агарозном геле в УФ
свете видны как светя
щиеся полосы.

**Преимущества мето
ПЦР:**

- Прямое определе
ние наличия возбудит
лей (специфического
участка ДНК) в мате-
риале,
- Высокая специфич
ность (фрагмент ДНК
характерен только для
данного возбудителя)

	<ul style="list-style-type: none"> • Высокая чувствительность (10-1000 клеток в пробе), • Универсальность процедуры выявления различных возбудителей, • Высокая скорость получения результата анализа, Возможность диагностики не только острых и латентных инфекций.
--	--

Занятие № 8: Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Инфекция и её формы, классификация. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.</p> <p>Биологический метод исследования, оценка, этапы. Применение в микробиологии. Методы заражения животных. Вскрытие.</p> <p>Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения. Особенности применения антибиотиков в стоматологической практике.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 104-111, 95-104; [2], – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)
---	--

Лабораторная работа

Задание

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

Методы, результаты

- С помощью пипетки вносим культуру.
- Смываем микробы, катая пр.
- С помощью пипетки переносим и распределяем по поверхности.
- Выдерживаем 20 минут для пропитки.
- Удаляем лишнюю жидкость фильтром (дном вверх).
- Фламбируем пинцет и накладываем диски, слегка прижимаем.
- Повторяем п.6 с разными антибиотиками.

Размещение дисков с антибиотиками

Учет результатов (выполняется на следующем занятии)
Диаметр зоны задержки роста, мм

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

Критерий	
Антибиотик	учет
Ампициллин	

Заключение:

Наименование культуры	Величина МИК, мг/л
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.

1. *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 _____

Препарат _____

Окраска _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8.

КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ

<p><u>В зависимости от возбудителя:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. бактериозы; 2. вирусозы; 3. микозы; 4. паразитозы; 5. гельминтозы. 	<p><u>По механизмам передачи - инфекции с:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. аэрозольным механизмом передачи; 2. фекально-оральным механизмом передачи; 3. трансмиссивным механизмом передачи; 4. контактным механизмом передачи; 5. трансплацентарным (вертикальным).. 	<p>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:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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.
<p><u>По источникам инфекции:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. антропонозы (источник - человек); 2. зоонозы (источник - животные); 3. сапронозы (источник внешняя - среда). 	<p><u>В зависимости от поражаемых систем органов:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. инфекции дыхательных путей; 2. инфекции ЖКТ; 3. инфекции крови; 4. инфекции кожи и др. 	<p>Этапы метода:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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.
<p><u>По кратности инфицирования:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. вторичная; 2. реинфекция; 3. суперинфекция; 4. рецидив. 	<p><u>По распространенности:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. очаговая; 2. системная; 3. генерализованная: бактериемия; токсемия; сепсис: септицемия, септикопиемия 	
<p><u>По длительности:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. острые; 2. хронические: первично-хроническая; вторично-хроническая; 3. медленные. 	<p><u>По числу возбудителей:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. моноинфекция; 2. смешанная инфекция. 	

По месту заражения:

1. внутрибольничная;
2. внебольничная.

По путям инфицирования:

1. эндогенные;
2. экзогенные.

По выраженности:

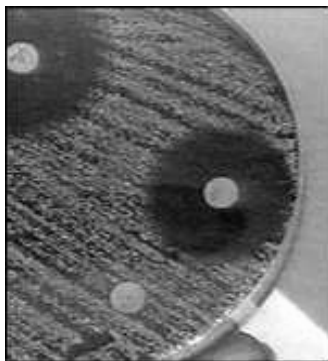
1. микроносительство (нет симптомов болезни, нет нарастания титра АТ);
2. бессимптомная (нет симптомов болезни, есть нарастание титра АТ);
3. стертая (неспецифические симптомы);
4. манифестная (инфекционное заболевание): легкая, средней тяжести, тяжелая.

Стадии инфекционного заболевания:

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

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.

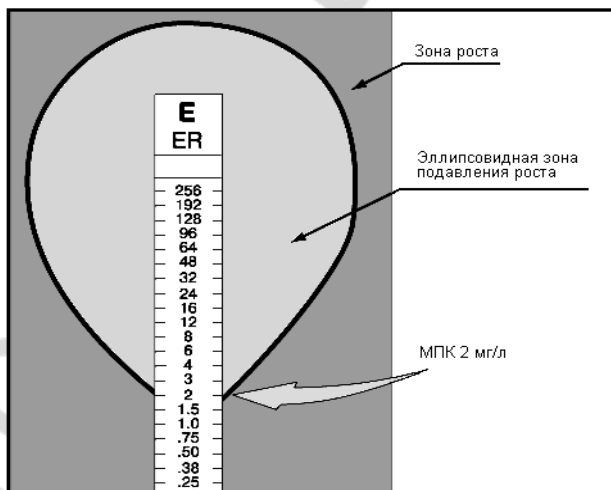
Недостатки метода: более материалоемкий и трудоемкий по сравнению с методом

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.



3. Метод Е-тестов.

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

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

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

бумажных дисков. Более целесообразны для научных исследований.

Автоматизированные системы для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

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

Недостатки метода:

Система может давать ошибочные результаты при классификации микроорганизмов, которые

гетерорезистентны к β -лактамным антибиотикам; 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.

Занятие № 9: Итоговое по теме «Морфология и физиология микроорганизмов»

Лабораторная работа

1. Провести учет опыта определения устойчивости бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков

(см. за

Перечень вопросов к итоговому занятию:

1. История становления и развития микробиологии как науки. Этапы. Основоположники микробиологии и ее основных направлений.
2. Характеристика бактериологического метода исследования.
3. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии.
4. Техника иммерсионной микроскопии.
5. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски.
6. Дифференциально-диагностические методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.
7. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.
8. Структура и функции поверхностных образований бактериальной клетки. Капсула. Методы выявления.
9. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки.
10. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.
11. Покоящиеся формы микробов. Споробразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.
12. Подвижность бактерий, методы выявления подвижности.
13. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.
14. Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения.
15. Систематическое положение и морфология актиномицетов.
16. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.
17. Систематическое положение и морфология риккетсий и хламидий.
18. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и зольных элементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ в клетку через мембрану.
19. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку.
20. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.
21. Характеристика бактериологического метода исследования.
22. Питательные среды для аэробов и анаэробов. Требования, предъявляемые к питательным средам, классификация.
23. Методы выделения чистых культур аэробов.
24. Методы выделения чистых культур анаэробов.
25. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая.

26. Биохимический метод идентификации микробов. Ферментативные свойства, липолитических свойств, выявление автоматических микробиологических анализов.
27. Генетический аппарат бактерий (хромосомы, плазмиды, транспозоны). Биологическая роль плазмид.
28. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.
29. Мутационная изменчивость. Генетическая изменчивость микроорганизмов. Понятие о генетической изменчивости.
30. Молекулярная диагностика. Цель. Задачи. Методы. Иммуноферментный анализ. Полимеразная цепная реакция.
31. Учение об инфекции. Условия возникновения и распространения инфекционных заболеваний. Признаки инфекционных заболеваний.
32. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность. Факторы патогенности.
33. Роль макроорганизма, физической и социальной восприимчивости.
34. Биологический метод исследования: задачи, методы, применение.
35. Химиотерапия и химиопрофилактика. Особенности применения в стоматологической практике.
36. Механизм действия антибиотиков. Показания к применению.
37. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам. Механизмы устойчивости.
38. Методы изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.
39. Экология микроорганизмов. Типы экологии. Факторы экологии.
40. Стерилизация, дезинфекция. Определение эффективности.
41. Асептика, антисептика. Определение эффективности в стоматологической практике.

Перечень практических навыков:

1. Приготовить мазок из бульонной культуры.
2. Приготовить мазок из агаровой культуры.
3. Окрасить препарат водным раствором метиленового синего.
4. Окрасить препарат водным раствором метиленового синего по Граму.
5. Окрасить препарат по Граму.
6. Техника иммерсионной микроскопии.
7. Определить морфологию чистой культуры.
8. Определить морфологию чистой культуры.
9. Определить морфологию грамположительных и грамотрицательных микробов в смеси, окраска по Граму.
10. Определить морфологию культуры в смеси.
11. Определить морфологию чистой культуры.

Занятие № 10: Методы клинической и инфекционной иммунологии.

Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета.

Перечень изучаемых вопросов: 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, исход. Методы определения активности фагоцитоза. Антигенпрезентирующие клетки (АПК).

Естественные киллеры.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] С. 111-129; [2], [5] – (учебники),
3. [3], [6] – (практикумы),
4. [7], [11], [13], [14] – (доп. литература).

Лабораторная работа

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

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.

$$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$$

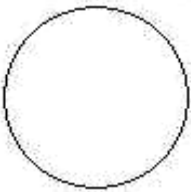
$$\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$$

2. Зарисовать демонстрационные препараты:

- Незавершенный фагоцитоз *N. gonorrhoeae*
- Незавершенный фагоцитоз *K. rhinoscleromatis*

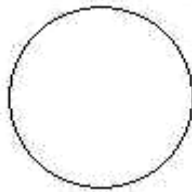
Препарат _____

Окраска _____



Препарат _____

Окраска _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

Рецепторы (маркеры) клеток неспецифического иммунного ответа <i>Моноциты/макрофаги:</i>				Методы оценки функции фагоцитов	
Маркеры фагоцитов				Стадия фагоцитоза	Метод
Маркер	Моноцит/макрофаг	Нейтрофил	Функция		
Scavenger (CD163 a, b)	+	-	Специфичен к полианионным лигандам (ЛПС Г-, липотейхоевые кислоты Г+), фагоцитоз, слабая активация фагоцитов	Хемотаксис	Хемотаксис лейкоцитов под агарозой
FcR1 (CD64)	+	-		Адгезия	
CD115	+	-		Поглощение	Прямые методы: фагоцитоз стафилококка, кандид (расчет фаг); Непрямые методы: фагоцитоз красителей, частиц латекса, кар
CD163	+	-		Разрушение микробов	Прямые методы: показатель завершенности фагоцитоза, опр сти. Непрямые методы: НСТ (МТТ) тест, определение активност белков и др.
CD66, CD92	-	+		Презентация АГ	

Рецепторы фагоцитов

Рецепторы, преимущественно вовлеченные в процессы фагоцитоза

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

Естественные киллеры (ЕК)

Маркеры ЕК

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

Субпопуляции ЕК

Маркер/функция	Активные И
CD56	±
CD57	+
CD16	±
CD69	++
Молекулы межклеточных взаимодействий	++
Лизис К-562	++
АЗКЦ	±
Пролиферация на ИЛ2	++
Циркуляция	Печень, слизистая ткани

Основные рецепторы ЕК

Рецепторы, вовлеченные в процессы киллинга

Рецепторы, активирующие киллинг (КАР)	
CD161	Принадлежит к семейству С-лектинов, распознает углеводы клеточных поверхностей (хондроитинсульфат, ганглиозиды, N-ацетил-глюкозамины и др.).
CD16	Рецептор Fc фрагмента Ig 3 типа, участвует в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности
Рецепторы, угнетающие киллинг (КИР)	
CD94, gp49B	Угнетение киллинга
p70	Распознавание HLA A, B антигенов, угнетение киллинга
CD158a, b	Распознавание HLA C антигенов, угнетение киллинга
Молекулы адгезии, необходимые для межклеточных взаимодействий	
Рецепторы, вовлеченные в хемотаксис и миграцию фагоцитов	
Рецепторы к хемокинам	Хемотаксис
L-селектин (CD62)	Качение, остановка, трансмиграция клеток в очаг воспаления
LFA I, III (CD11a/CD18, CD58)	
ICAM I, II (CD54, CD102), CD31	
Рецепторы к цитокинам	
Рецепторы к ИЛ 2, 4, 10, 12, 15, ИФН-гамма	Активация киллинга, повышение цитотоксичности, секреция цитокинов

Регуляторные механизмы системы комплемента

А. Ферменты плазмы крови: расщепляют и инактивируют компоненты комплемента

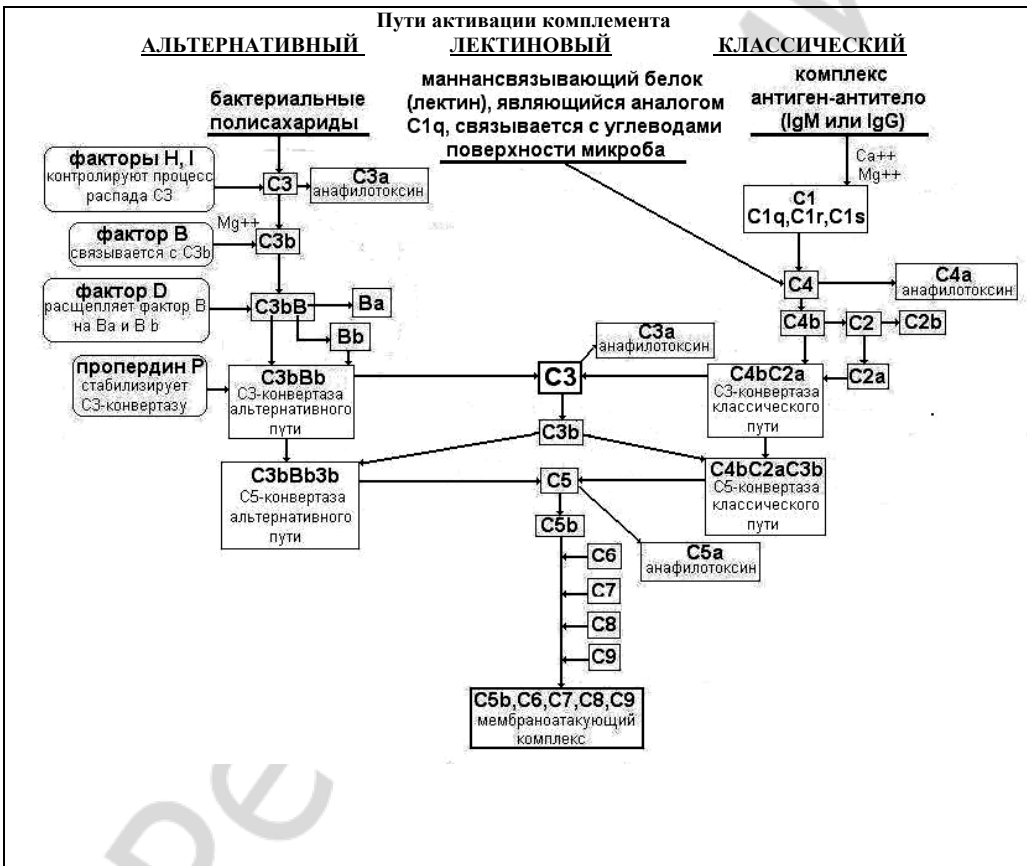
- Фактор I расщепляет C3b как в растворе, так и на поверхности клетки
 - расщепленный C3b не способен функционировать в составе комплекса C4b2a3b
 - образуются биоактивные продукты расщепления: C3c и C3e
 - фактор I расщепляет также C4b, но только в присутствии C4b связывающего белка
- Инактиватор анафилатоксинов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

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

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

В. Регуляторные белки клеточных мембран

- Фактор, ускоряющий разрушение (DAF) и мембранный кофакторный белок (MCP) выполняют те же функции, что фактор H и C4bBP, но действуют на C3 и C5.
 - DAF препятствует образованию C3 конвертаз путем ускорения диссоциации C4b с C2a и C3b с Bb
 - Клиническая значимость: дефицит DAF ассоциируется с пароксизмальной ночной гемоглобинурией - эритроциты таких людей характеризуются повышенной чувствительностью к комплемент-опосредованному лизису
 - MCP - интегральный мембранный белок, способствующий протеолитической инактивации C3b и C4b фактором I. Гомологичный ограничивающий фактор (HRF) или C8-связывающий белок; препятствует ассоциации C8 с комплексом C5b67.



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

Белки острой фазы

Белки острой фазы относят к гуморальным факторам системы врожденного иммунитета. Эти факторы постоянно присутствуют в норме в плазме крови, о ФНОα и, особенно, ИЛ6, их синтез клетками ретикуло-эндотелиальной системы и гепатоцитами повышается на несколько порядков. К белкам острой фазы относят плазмы, маннозо-связывающий белок, альфа-1-антитрипсин и др. Определение некоторых белков острой фазы (ЦРБ) применяется в клинике для оценки

Белок острой фазы	Семейство, характеристика	
ЦРБ 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 фосфорилхолином Грам+ бактерий, ДНК, белками внеклеточного матрикса и др.)	При связывании пентраксины изменяют конформацию по классическому и альтернативному пути. Связанный ЦРБ является хемоаттрактантом и способствует пролиферации, индуцирует 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 тюльпанов). Каждая цепь содержит коллагеноподобный участок и С-лектиновый участок, специфичный к терминальным сахарам микробов (маннозе, фукозе, глюкозамину).	При связывании соответствующих сахаров на поверхности микробов происходит изменение конформации и превращается в сериновую протеиназу, ассоциированные с маннозо-связывающим белком (С-комплемента), а также расщеплять факторы С-комплемента).

Занятие № 11: Методы клинической и инфекционной иммунологии.

Иммунный ответ организма.

<p>Иммунный ответ организма, определение, условия развития. Антигены: строение, свойства, классификация. В-система лимфоцитов. Основные маркеры. В-клеточный рецептор. Гуморальный иммунный ответ. Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение. Т-система лимфоцитов. Основные маркеры. Т-клеточный рецептор. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Хелперы 1-го, 2-го и 3-го типов. Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Методы оценки Т- и В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 129-142; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [11], [13], [14] – (доп. литература).</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - реакция бласттрансформации лимфоцитов - определение В-лимфоцитов методом иммунных розеток 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11

<p>1. Маркеры и рецепторы В-лимфоцитов В настоящее время на В-лимфоцитах идентифицированы более 38 поверхностных молекул, для большей части из которых известны и изучены функции, структура, первичная последовательность, локализованы соответствующие гены. Для удобства изучения эти молекулы условно можно разделить на ряд групп в соответствии с выполняемой функцией:</p> <p><u>А. Молекулы, вовлеченные в распознавание антигена и сигнальные процессы</u></p> <p>а) поверхностные иммуноглобулины (в отличие от секреторируемых всегда являются мономерными и содержат дополнительную С-концевую последовательность в тяжелой цепи – для крепления молекулы в мембране. Синтез двух форм иммуноглобулина возможен благодаря альтернативной транскрипции гена тяжелой цепи).</p> <p>б) CD79 альфа и бета (проводят основной сигнал о распознавании антигена - о его связывании с поверхностным иммуноглобулином).</p> <p><u>Б. Молекулы, предназначенные для контактного межклеточного взаимодействия и презентации антигена Т-лимфоцитам</u></p> <p>а) CD40 – CD154 (CD40L) - наиболее мощный костимуляторный сигнал для В-клеток б) CD80, CD86 – CD28, CTLA – взаимная костимуляция Т и В клеток (важнейший костимулятор для Т-клеток) в) CD72 – CD5 – адгезия Т и В клеток, стимуля-</p>	<p>в) CD21 – рецептор системы комплемента 2 типа (С3d). г) CD19 – интегральный мембранный гликопротеид, образует комплекс с CD21 и ТАРА1 (CD81). Экспрессирован на всех В-клетках, начиная с про-В-лимфоцитов. Отсутствует на плазматичках. д) CD81 (ТАРА) – принадлежит к семейству ТМ4 (одноцепочечные белки с четырьмя трансмембранными доменами), является корецептором ВКР. е) CD45 – мембран-ассоциированная фосфатаза. Она дефосфорилирует тирозиновые киназы, связанные с ВКР и ассоциированными молекулами. Т.о. CD45 приводит сигнальную систему в состояние готовности и регулирует ее активность. Различные изоформы CD45 (в основном, CD45RA) присутствуют на всех В клетках. ж) CD40 - гликозилированный фосфопротеин, член суперсемейства рецептора фактора некроза опухолей (РФНО). Необходим для активации В клеток, отмены активационного апоптоза и переключения изотипа антител.</p> <p><u>В. Молекулы для дистантного взаимодействия</u></p> <p>а) рецептор для ИЛ2 – CD25, CD122, CD132 б) рецептор для ИЛ4 – CD124, CD132 в) рецептор для ИЛ5 – CD125, CD131 г) рецептор для ИЛ6 – CD126, CD130 д) рецептор для ИФН-гамма – CD119 е) рецептор для ИЛ1 – CD121. ж) рецептор для РФНО-альфа – CD120.</p>
---	--

<p>ция пролиферации В клеток</p> <p>г) CD54 (ICAM1) - LFA1(CD11a/CD18) адгезия, костимуляция</p> <p>д) CD58(LFA3) – CD2 адгезия, костимуляция</p> <p>е) молекулы ГКГС II типа – CD4 - рестрикция иммунного ответа</p>	
<p>Г. Маркеры активации</p> <p>а) CD25, а также экспрессия других высокоаффинных рецепторов к цитокинам</p> <p>б) CD69 – передача сигнала о пролиферации</p> <p>в) CD71 – рецептор для трансферрина, важен для пролиферации</p> <p>г) CD23 – низкоаффинный рецептор для Fc фрагмента IgE II типа, необходим для клеточного деления.</p> <p>д) Гиперэкспрессия молекул ГКГС II типа</p> <p>е) CD30 – передача сигнала о пролиферации/апоптозе (лиганд – CD153)</p>	<p>Д. Другие важные молекулы</p> <p>CD32 – рецептор к Fc фрагменту IgG II типа – при связывании передает отрицательный сигнал (угнетает активацию).</p> <p>CD5 – молекула из семейства скавенжер-подобных рецепторов. Ассоциирована с ВКР, возможно, помогает распознавать/активирует В клетки I типа.</p> <p>CD49 – опосредует взаимодействие с внеклеточным матриксом.</p> <p>CD24 – участвует в костимуляции и активации В лимфоцитов.</p> <p>CD35 – рецептор для комплемента I типа (C3b).</p>

Регуляция изотипа антител цитокинами Т-лимфоцитов

Цитокин	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgA	IgE	IgM
<i>IL-4</i>							
<i>IL-5</i>					↑ продукцию		
IFN-gamma							
TGF-beta							

Цитокины могут стимулировать (серый) или угнетать (черный) переключение на указанный изотип.

2. Таблица 11. Субпопуляции В-лимфоцитов

Признак	В-1 лимфоциты	В-2 лимфоциты
Происхождение	Отдельная СК-предшественник; покидает ККМ в раннем онтогенезе	ККМ, общая СК
Место обитания	Прибарьерные полости (плевральная, брюшная) и др.	ККМ, периферия
Специфичность	Общие структуры микробов (сигналы инфекционного чужого), невариабельные участки иммуноглобулинов, ТКР, HLA I антигены, Fc-рецепторы, молекулы межклеточной адгезии и др.	Практически все молекулы любого класса
Изотип	Преимущественно IgM	Любой
Функция	Синтез нормальных (естественных) антител Быстрый ответ на распространенные микробные патогены Удаление апоптических клеток Поддержание тонуса иммунной системы Поддержание гомеостаза иммунной системы	Все известные функции

<p>1. Рецепторы и маркеры Т-клеток.</p> <p>Основные маркеры Т-лимфоцитов:</p> <p>CD2 – рецептор к эритроцитам барана, молекула адгезии (лиганд - CD58)</p> <p>CD3 – корецептор ТКР (см. ниже)</p> <p>Молекулы, вовлеченные в распознавание антигена:</p> <p>Т-клеточный рецептор (ТКР): ТКР является гетеродимером, состоящим из двух различных цепей. Обе цепи являются трансмембранными белками суперсемейства иммуноглобулинов. Внеклеточная часть содержит один переменный и один константный домен. Эта часть молекулы вместе с второй цепью образует агрегат (антиген-специфический участок) и отвечает за распознавание и связывание антигена. Мембранная часть молекул стабилизирует структуру рецептора при отсутствии антигена. Клеточная часть участвует в проведении сигнала активации к ядру лимфоцита.</p> <p>В настоящее время обнаружены две разновидности ТКР:</p> <p>■ около 95% Т-клеток периферической крови несут на поверхности ТКР второго типа, состоящий из альфа-бета цепей. Эти клетки отвечают за все известные</p>	<p>Молекулы адгезии. Молекулы адгезии обеспечивают контактное взаимодействие клеток, а также облегчают/усиливают передачу сигнала с ТКР. Основные молекулы - CD2 (рецептор к эритроцитам барана, LFA2) - LFA3 (CD58); LFA1 (гетеродимер CD11a и CD18) - ICAM-1(CD54); VLA4 (гетеродимер CD49/CD29) - VCAM (CD106); CD43 - ICAM-1 (CD54). Дефект взаимодействия посредством молекул адгезии приводит к отсутствию иммунного ответа.</p> <p>Костимуляторные молекулы. Необходимы для развития как гуморального, так и клеточного ответа. Их роль заключается в усилении сигнала активации Т-лимфоцитов и отсрочка/отмена срабатывания механизмов апоптоза. Основные пары рецептор-лиганд: CD2 - LFA3; LFA-1 - ICAM-1; CD40 - CD40; CD5 - CD72; CD24 - CD24; CD28 - B7.1 (CD80); CD28 - B7.2 (CD86); CTLA-4 - B7.1 (CD80); CTLA-4 - B7.2 (CD86). Дефект взаимодействия по костимуляторным молекулам приводит к анергии Т (В) лимфоцитов и их апоптозу.</p> <p>Необходимо выделить пару рецепторов CD28 и CTLA-4, регулирующих интенсивность иммунного ответа. CTLA-4 - высокоаффинный рецептор с негативной функцией. В условиях низкой активности иммунного</p>
---	---

<p>функции лимфоцитов, циркулируют в тканях и периферической крови, заселяют лимфоузлы;</p> <p>■ оставшиеся 5% лимфоцитов экспрессируют ТКР первого типа, состоящий из цепей гамма-дельта. Такие лимфоциты первыми появляются в онтогенезе, обнаруживаются в коже и слизистых специфические функции неизвестны. Такие лимфоциты имеются у всех животных в небольших количествах, в основном представляют собой CD8+ клетки. Как и другие лимфоциты, они продуцируют широкий спектр цитокинов, обладают цитотоксичностью, хорошо отвечают на внутриклеточные антигены.</p> <p>Ко-рецепторы: Молекулы ТКР ассоциированы с молекулами CD3 и CD4/CD8. CD3 - комплексная молекула - гетерополимер, состоящий как минимум из пяти полипептидных цепей (гамма, дельта, эпсилон, зетта), которые расположены на мембране как единый кластер, распознаются моноклональными антителами как CD3 специфичность и участвуют в передаче сигнала о распознавании и связывании антигена.</p> <p>Корецепторы CD4 и CD8 тесно связаны с ТКР и распознают свои молекулы гистосовместимости соответственно II и I классов. Эти рецепторы экспрессируются в соответствии с функцией лимфоцитов (субпопуляционной принадлежностью) и обеспечивают рестрикцию распознавания Т-лимфоцитов, поскольку антигены, ассоциированные с молекулами ГКГС II типа это продукты переработки экзоантигенов, а ассоциированные с молекулами ГКГС I типа - это продукты переработки эндоантигенов (антигенов, синтезированных внутри клетки).</p>	<p>взаимодействия (слабая активность АПК, непрофессиональные АПК) и слабой экспрессии молекулы В7 преимущественная активация CTLA-4 приводит к угнетению ответа. В случае значительной экспрессии В7 активируются низкоаффинные рецепторы CD28 с позитивной функцией, что обеспечивает развитие полноценного ответа. Активация Т-лимфоцитов приводит к повышению экспрессии молекул CTLA-4 на их поверхности, что ограничивает активацию и пролиферацию специфических лимфоцитов.</p> <p>Маркеры активации: CD69 – гликопротеид ранней активации (функции не установлены) CD25 – альфа цепь рецептора к ИЛ2 CD71 – рецептор к трансферрину CD95 – рецептор активационно-индуцируемого апоптоза HLA-II - антигены гистосовместимости второго типа</p> <p>Молекулы для дистантного взаимодействия CD25/122/132 – альфа, бета и гамма цепи рецептора к ИЛ2 CD121 – рецептор к ИЛ1 CD117 – рецептор к фактору роста стволовых клеток CD124/132 – рецептор к ИЛ4 CD127/132 – рецептор к ИЛ7 CD129/132 – рецептор к ИЛ9 Молекулы HLA HLA I - конститутивные HLA II – индуцибельные (после активации).</p>
<p>2. Т-лимфоциты с регуляторными функциями</p> <p>Т-хелперы 3 – открыты в 1994 г, субпопуляция Th, обнаружены в мезентериальных л/у, продуцируют много трансформирующего фактора роста бета и переменные количества ИЛ4 и ИЛ10.</p> <p>Т-регуляторы 1 и 2 открыты в 1997 г. Это субпопуляции CD4+ клеток, вырабатывающая много ИЛ10, а также немного ИЛ2 и ИЛ4.</p> <p>CD4+CD25+ лимфоциты описаны в 1995 г. Свое действие реализуют контактно, через костимуляторную молекулу CTLA, или дистантно, через синтез большого количества ТФР-бета.</p> <p>Естественные киллеры с ТКР (ЕКТ)-клетки описаны как активные регуляторы иммунных реакций в последние годы (с 1998). Характерной особенностью является экспрессия инвариантного ТКР и маркеров ЕК. Способны быстро синтезировать ИЛ4 или IFN-γ, и, таким образом, регулировать направление (и силу) иммунного ответа.</p>	

Занятие № 12: 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.

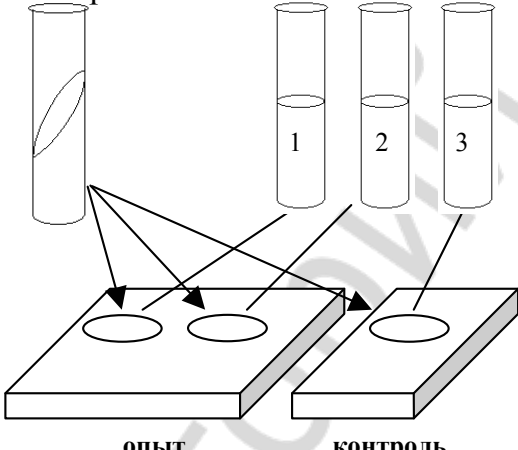

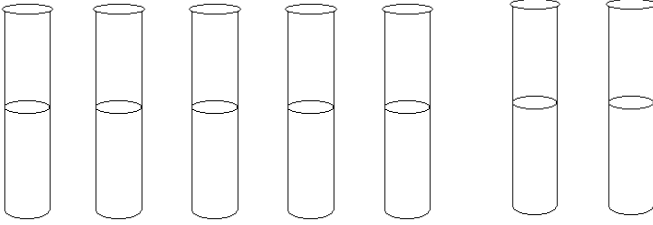
Реакции иммунного лизиса, применение. Реакция связывания комплемента: характеристика ингредиентов, постановка, учёт, оценка, применение.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Прямой и непрямой варианты. Иммуноферментный анализ (ИФА). Радиоиммунный анализ (РИА).

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] С. 156-162; [2], [5] – (учебники),
3. [3], [6] – (практикумы),
4. [7], [11], [13], [15] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p>	<p>X-микроб</p>  <p>1. Сыворотка против <i>S. typhi</i> 2. Сыворотка против <i>E. coli</i> 3. Физ. раствор</p> <p>Закключение: X-микроб - _____</p>
<p>2. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p>	<p>1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 КС КА</p>  <p>Закключение: _____</p>
<p>3. Провести учет реакции связывания комплемента (РСК) с целью определения титра антител в сыворотке крови.</p>	<p>1/5 1/10 1/20 1/40 1/80 КС КА</p>  <p>Закключение: _____</p>

Протокол постановки и учета ИФА для обнаружения HBs-Ag в сыворотке крови																												
<p>4. Поставить и учесть ИФА для определения HBs-антигена в донорской сыворотке:</p> <p>а) раскапать контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки;</p> <p>б) раскапать конъюгат по 50 мкл в каждую лунку;</p> <p>в) инкубировать 1 час при 37° С;</p> <p>г) промыть стрип 5 раз;</p> <p>д) раскапать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;</p> <p>е) инкубировать 30 минут при 37°С;</p> <p>ж) раскапать стоп-реагент по 100 мкл в каждую лунку;</p> <p>з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты;</p> <p>и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.</p>	<p>1. Дата постановки _____ 2. ФИО лаборанта _____ 3. Карта постановки _____</p>																											
		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																										
	<p>4. Оценка достоверности теста:</p> <p>а) ОП отрицательных контролей (ОПК⁻) < 0,15 ОПК⁻ = _____</p> <p>б) ОПК⁻ должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК⁻ средняя ОПК⁻ = _____ 0,6 средней ОПК⁻ = _____ 1,4 средней ОПК⁻ = _____</p> <p>в) ОП положительного контроля (ОПК⁺) должна превышать среднюю ОПК⁻ более чем в 4 раза: ОПК⁺ / средняя ОПК⁻ = _____</p> <p>г) значение ОП слабоположительного контроля должно превышать уровень cut-off</p> <p>5. Расчет уровня cut-off: ОП cut-off = средняя ОПК⁻ + 0,04</p> <p>6. Интерпретация результатов:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Номер образца</th> <th>ОП образца</th> <th>Закл.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>													Номер образца	ОП образца	Закл.	1			2			3			4		
	Номер образца	ОП образца	Закл.																									
	1																											
2																												
3																												
4																												
<p>Врач-лаборант _____ Подпись преподавателя _____</p>																												

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.

1. Сравнительная чувствительность серологических реакций

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

	генам)	
--	--------	--

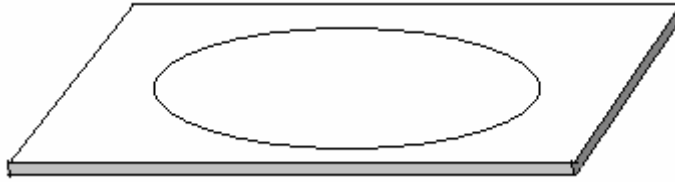
Титр – _____

Диагностический титр – _____

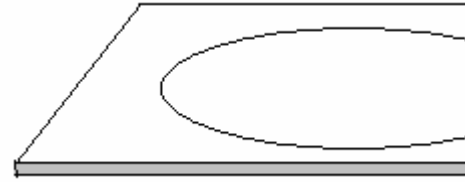
Диагностикум - _____

Диагностическая сыворотка – _____

Схема реакции иммунофлюоресценции (РИФ)
Прямой вариант



Непрямой



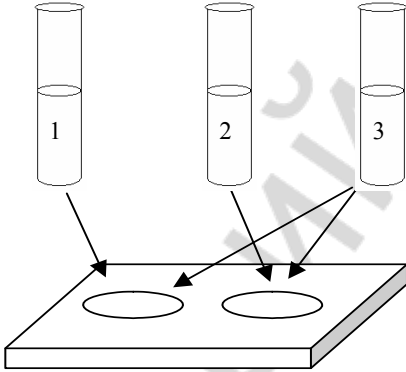
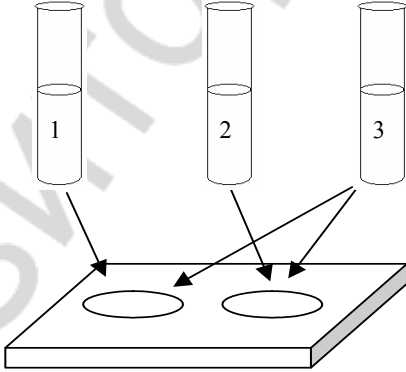
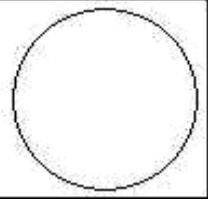
(нарисуйте)

РЕПОЗИТОРИЙ В

Занятие № 13: Аллергия. Основы клинической иммунологии. Оценка иммунного статуса.

<p>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.</p> <p>Методы диагностики аллергических состояний.</p> <p>Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма. 1-й и 2-й уровни оценки иммунного статуса (см. методичку).</p> <p>Первичные и вторичные иммунодефициты.</p> <p>Аутоиммунные болезни. Причины возникновения, проявления. Аутоантигена, диагностическое значение, методы определения.</p> <p>Противоопухолевый иммунитет.</p> <p>Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия.</p> <p>Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 142-148, 149-156; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [11], [13], [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.</p> <p>Ревматоидный фактор = аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (СКВ, РА) и применяется для диагностики).</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Физ. раствор 2. Сыв. больного 3. Эритроцитарный диагностикум ревматоидного фактора (DRF)
<p>5. Постановка и учет реакции латекс-агглютинации для обнаружения антител к тиреоглобулину</p> <p>Латексный диагностикум = микросферы латекса, покрытые молекулами тиреоглобулина</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Физ. раствор 2. Сыв. больного 3. Латексный диагностикум
<p>3. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>Реакция дегрануляции тучных клеток.</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> 	<p style="text-align: right;">Закл...</p> <p style="text-align: right;">По...</p>

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

<p>1. Некоторые тесты для диагностики аллергий:</p> <p>1. Общие положения</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Кожное тестирование проводят только в период ремиссии заболевания. 2. В случае расхождения данных 	<p>2. Прик-тест.</p> <p>Техника prick-тестов отличается тем, что аллергены, гистамин и разводящая жидкость вносятся в эпидермис кожи с помощью специальных одноразовых ланцетов посредством укола. Место постановки и дезинфекция кожи такая же, как и у скарификационных тестов. Тестирование обычно проводят на ладонной поверхности предплечья или на спине. Кожу обезжиривают спиртом. Далее наносят по 1 капле аллергенов на расстоянии 4-5 см друг от друга. В качестве отрицательного</p>
---	---

анамнеза и данных, полученных при проведении кожно-скарификационного тестирования возможно проведение внутрикожной пробы.

3. Любое кожное тестирование может дать системную реакцию в виде анафилактического шока или обострения со стороны шокового органа.

4. Кожные пробы должна проводить специально обученная медицинская сестра; врач обязан присутствовать во время проведения кожных проб и оценивать результаты.

5. Перед постановкой проб следует отменить приём антигистаминных препаратов, причём срок отмены во многом зависит от группы, к которой относится этот препарат. Прием большинства H1-блокаторов прекращают за 48 ч, лоратадина, цетиризина за 96 ч, а астемизола за 4 недели до исследования. Теофиллин, адrenomиметики (ингаляционные и для приема внутрь), препараты из группы кромолина натрия не влияют на кожную чувствительность. Единого мнения о влиянии ингаляционных кортикостероидов на кожную чувствительность нет.

контроля используют разводящую жидкость (раствор альбумина), положительного - гистамин. Можно использовать различный инструмент, обычно применяют скарификатор или специальный шприц для прик-теста, которыми и прокалывают кожу через каплю раствора аллергена. Прокол должен быть достаточным по глубине, но не до крови. Оценку реакции проводят через 20 мин; если до истечения этого времени развивается выраженная реакция, то каплю аллергена следует удалить, чтобы избежать общих реакций.

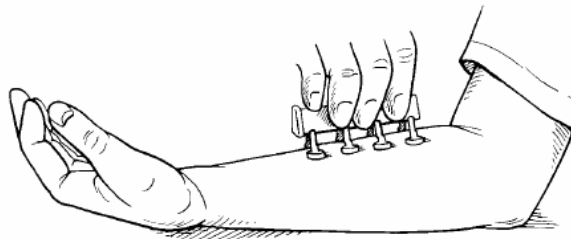


Рис. 11. Постановка прик-тестов с помощью одноразового аппликатора (+контроль, -контроль и 6 аллергенов)

3. Критерии оценки прик-тестов

Результат реакции	Условные обозначения	Описание реакции
Отрицательный	-	Размеры, как в контроле с разводящей жидкостью
Слабоположительный	+	Волдырь диаметром 3–5 мм с гиперемией до 10 мм, заметен только при натягивании кожи
Положительный	++	Волдырь диаметром 5–10 мм, окруженный зоной гиперемии, диаметром 5–10 мм
	+++	Волдырь диаметром 10–15 мм, окруженный зоной гиперемии, диаметром более 10 мм
	++++	Волдырь диаметром более 15 мм, с псевдоподиями, гиперемия диаметром более 20 мм

4. Достоинства и недостатки прик-тестов

Достоинства:

1. Легко выполнимы
2. Безопасны
3. Безболезненны
4. Недороги
5. Высоко специфичны

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

5. Ошибки при диагностике аллергии с помощью кожных тестов:

А. Ложно-отрицательные результаты:

- 1) отсутствие препарата необходимого аллергена;
- 2) неправильное хранение аллергенов;
- 3) неправильная техника выполнения проб;

- 4) снижение реактивности кожи (пожилой возраст, низкая температура при охлаждении, индивидуальная рефрактерность);
- 5) рефрактерный период после системной аллергической реакции, связанный с потреблением IgE и ках кожи. Поэтому кожное тестирование целесообразно выполнять не ранее, чем через 3-4 недели;
- 6) прием лекарственных препаратов, тормозящих развитие реакций немедленного типа.

Б. Ложно-положительные результаты:

- 1) нарушение техники постановки кожных проб и изменение свойств аллергенов (низкая pH, изменение объема и др.);
- 2) прием лекарственных препаратов и пищевых продуктов, являющихся либераторами гистамина;

3) выраженный кожный дермографизм.
В. Результаты тестирования должны обязательно сопоставляться с клиническими данными.

Лабораторные тесты для диагностики ГНТ 1 типа (медиаторного)

Радио-аллерго-сорбентный тест (РАСТ) использовался для выявления реагинов начиная с конца 60 годов 20 столетия. В качестве сорбента используется полимер – аллергенный конъюгат, который сорбирует на себе специфические по отношению к использованному аллергену. Конъюгат обрабатывается меченой радиоактивным изотопом (¹²⁵I) сывороткой, содержащей антитела против человеческого IgE. Степень радиоактивности этого конъюгата в сопоставлении с контролем и стандартной кривой.

Иммуноферментный анализ (ИФА) – вид иммунохимического анализа, основанный на иммунологической реакции антигена с антителом. Для выявления которого в качестве метки (маркера) антигена, антитела или обоих используются конъюгаты с ферментами. Количественные измерения веществ в ИФА основаны на определении активности ферментов (по количеству специфических для данных ферментов субстратов) колориметрическими методами или путем измерения теплового эффекта.

Иммунохемилюминесцентный анализ. Принцип постановки теста такой же, как и при ИФА и радиоаллергосорбентном тесте. Используются фотореагенты, свечение которых регистрируется на люминометре (УФ фотометре).

Самым распространенным в настоящее время методом определения общего и специфического IgE является иммуноферментный анализ. Для оценки результатов лабораторных исследований необходимо знать метод определения уровня IgE и нормальные показатели. Согласно ВОЗ 1МЕ/мл (МЕ – международная единица) соответствует 2.4 нг. Обычно концентрация IgE выражается в МЕ/мл.

Содержание IgE в сыворотке крови здоровых

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

Полуколичественная оценка сп

Класс	Трактовка
0	реакция отрицательная
1	
2	
3	реакция сомнительная
4	
5	реакция положительная

Уровень общего IgE должен определяться только количественно и выражается в кЕ/л. Уровень специфического IgE к пыльцевым, бытовым и пищевым аллергенам определяется количественно. В последнем случае результат оценивается в классах от 0 до 5. Каждый класс имеет соответствующую клиническую трактовку.

Для определения специфического IgE предлагаются коммерческие тест-системы для большого перечня пыльцевых, бытовых, пищевых, лекарственных и профессиональных аллергенов. Составить перечень возможных причинно значимых аллергенов может врач-аллерголог (иммунолог), основываясь на данных тщательного анамнеза. Представляется возможным, или список аллергенов насчитывает 15–20 и более, целесообразно проводить определение специфического IgE в два этапа. Этап 1 – смеси из 4–6 аллергенов. В случае наличия положительного результата необходимо перейти к этапу 2, во время которого специфический IgE определяется к каждому из аллергенов.

ВОПРОСНИК ДЛЯ БОЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ (сокращенный)

Ф.И.О. _____ Год рождения _____ Место рождения (город, село) _____

Родители и родственники: болели ли (заполните таблицу):

Заболевания	Родители		Братья	Сестры	Другие родственники
	мать	отец			
Бронхиальная язва					
Сенная лихорадка					
Экзема					
Крапивница					
Вазомоторный ринит					
Мигрень					
Отек Квинке					
Острый суставной ревматизм					
Туберкулез					
Сахарный диабет					
Нервные и психические болезни					

Примечание: нужное отметить знаком +

Каким было Ваше здоровье в детстве _____ Какими инфекционными заболеваниями Вы болели и в каком возрасте _____
Часто ли страдаете ОРЗ, пневмониями, бронхитами, ангинами, отитами _____

Когда Вам делали инъекции сывороток и вакцин _____ Какие были осложнения при их введении и когда _____

Болели ли Вы болезнями, перечисленными выше в таблице (если да, то какими) _____

Раздражительны ли Вы? _____ Бывают ли у Вас насморки без связи с простудой? _____ Не чувствуете ли Вы себя плохо в присутствии (подчеркнуть): цветов, смол, масел, духов, красок, бензина, керосина или др. факторы _____

Не чувствуете ли Вы себя плохо при употреблении в пищу (подчеркнуть): хлеба, вина, пива, чая, кофе, какао, овощей (каких?) _____, меда, орехов, раков, крабов, рыбы, яиц, мяса (указать вид) _____ молока, или др. продукты питания _____

Как Вы переносите укусы насекомых (комары, пчелы и др.) _____ Как Вы переносите контакты с животными _____

Какие лекарства Вы плохо переносите: антибиотики _____, сульфаниламиды _____, новокаин, анальгетики _____, препараты йода, брома, др. лекарства _____

Курите ли Вы _____, употребляете алкоголь _____ Как Вы себя чувствуете в различные времена года _____

Как действует на Вас перемена погоды _____

Ваше самочувствие в сухую погоду, влажную, сухую и теплую, ветреную, солнечную _____, влияние на Вас купания _____ Когда Вы себя чувствуете хуже: днем или ночью _____

Влияют ли на состояние здоровья условия жизни и труда (учебы). В этом разделе анкеты подробно выясняется, в каких местах бывает анкетированный и как он там себя чувствует, условия его проживания: материал из которого построен дом, есть ли подвал, какая крыша дома, сухой, сырой (плесень), холодный или теплый дом (квартира), солнечная ли сторона, какое отопление, мебель (новая, старая, мягкая, ковры), чем набит матрац, перина, какие одеяла, подушки и др. Опрос по условиям труда включает вопросы, где и кем работает опрашиваемый, сколько часов в день он работает, в каких условиях (размеры рабочего места, теплое, холодное, пыльное и тд.), профессиональные вредности (пыль, химические вещества).

Если Вы больны в настоящее время, то ответьте на следующие вопросы:

Когда и где Вы заболели _____ Ваши жалобы _____

С чем Вы связываете свое заболевание: переменой работы, места жительства, контактом с определенными предметами, мебелью, химическими веществами, употреблением пищевых продуктов, инъекциями сывороток, вакцин, приемом лекарств, укусами животных или насекомых (подчеркнуть) или др. факторами _____.

Когда бывают у Вас приступы болезни: дома, на работе, др. местах _____, Есть ли какая-нибудь закономерность в течении Вашего заболевания _____

1. Новые виды вакцин:

<p>Векторные Состоят из двух компонентов: А. Ген консервативного белка патогена, способного индуцировать протективный иммунный ответ Б. Собственно вектор: непатогенный (в идеале) микроорганизм, обеспечивающий продукцию и доставку нужного антигена в определенный компартмент организма, достаточно длительную персистенцию антигена и управляемое микроокружение для развития нужного типа иммунного ответа. В качестве перспективных векторов предложены: - вирус осповакцины и все существующие аттенуированные противовирусные вакцины. Обеспечивают доставку антигена и презентацию его по цитоплазматическому пути (подходят для создания клеточного киллерного иммунного ответа); позволяют использовать Т-хелперный потенциал, выработанный в ходе предшествующей вакцинации вектором (решение проблемы низкой иммуногенности отдельных пептидов возбудителя); - БЦЖ: геном микобактерии позволяет разместить генноинженерные конструкции больших размеров; БЦЖ является сильным стимулятором клеточного иммунного ответа по типу ГЗТ; - Мутантные штаммы сальмонелл («идеальный» вариант для профилактики кишечных заболеваний): доставка антигена в лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, стимуляция презентации по эндосомному пути, развитие контролируемого воспаления. Антиидиотипические: Представляют молекулы иммуноглобулинов, выработанные в ответ на антигены, специфичные к антигенам возбудителя. Позволяют преодолеть некоторые проблемы вакцинологии: - токсичность некоторых вакцинных антигенов (коклюшная вакцина) - сложность или опасность производства антигенов возбудителя; - низкую иммуногенность полисахаридных и липидных антигенов некоторых возбудителей; - отсутствие иммунологической памяти при иммуни-</p>	<p>ДНК-вакцины («революция» вакцинологии). В данном случае основой иммунизации является плазмидный материал. Плазмидная ДНК проникает в миоциты при внутримышечном введении, может быть введена в ткани путем бомбардирования частицами золота, покрытыми ДНК, или путем интраназального закапывания. Один микрограмм ДНК потенциально может содержать тысячу различных генов, кодирующих протективные антигены микроорганизмов. Преимущества ДНК-иммунизации 1. Плазмиды легко изготавливаются в больших количествах 2. ДНК является высокостабильной структурой 3. ДНК устойчива в широком диапазоне температур 4. Последовательность ДНК легко можно изменить, т.е. такая вакцина позволит гибко реагировать на возможные изменения микроорганизма. 5. Использование ДНК-вакцинации позволяет иммунизировать антигенами полностью соответствующими естественным вирусным антигенам – они синтезируются внутриклеточно и проходят те же этапы посттрансляционной модификации в клетках человека (недостаток рекомбинантных вакцин). 6. Для иммунизации можно использовать смеси плазмид, кодирующих различные протективные эпитопы одного или многих возбудителей. 7. Плазмиды не размножаются и кодируют только нужные для иммунизации белки. 8. Такие вакцины не содержат белков (антигенов) и не вызывают иммунного ответа к самим себе. 9. Благодаря заведомой реализации цитоплазматического пути презентации антигена ДНК-вакцины вызывают образование Т-киллерного ответа против протективных антигенов. Такой ответ весьма важен для защиты от вирусных и бактериальных инфекций, вызываемых бактериями-внутриклеточными паразитами (микобактерии туберкулеза). Возможные проблемы 1. Интеграция в геном хозяина и индукция соматических мутаций 2. Возникновение аутоиммунных реакций (появление анти-ДНК-антител)</p>
--	--

защиты указанными антигенами.	3. Индукция иммунологической толерантности к конкретным антигенам.
-------------------------------	--

2. Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины

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

Занятие № 14 ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия».

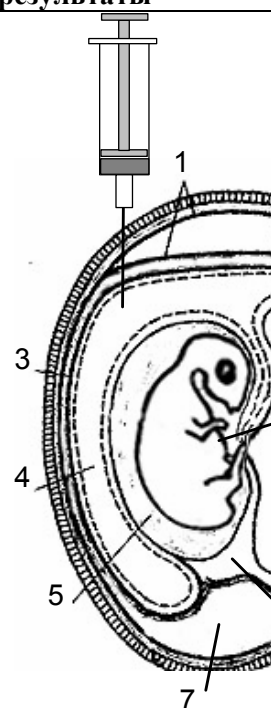
<p>Перечень вопросов:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Иммунология. Определение, задачи, методы.2. Иммунная система организма. Характеристика. Органы, клетки, биомолекулы.3. Цитокины. Определение. Классификация. Биологическая роль.4. Иммунитет, виды иммунитета. Характеристика противoinфекционного иммунитета.5. Естественный иммунитет. Определение. Факторы неиммунной и иммунной природы и их характеристика.6. Комплемент, пути активации, функции. Значение в противoinфекционной защите. Методы определения активности.7. Фагоцитоз. Фагоциты. Фазы фагоцитоза. Исходы. Хемотаксины, опсоины, происхождение и роль в противoinфекционном иммунитете.8. Методы определения показателей фагоцитоза.9. Иммунный ответ и факторы, определяющие его выраженность.10. В-система лимфоцитов. Гуморальный иммунный ответ, этапы.11. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов.12. Антигены: структура, классификация, характеристика.13. Антигенная структура бактерий. Перекрёстно-реагирующие антигены.14. Антитела, структура молекулы, свойства. Моноклональные и антидиотипические 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.	<ol style="list-style-type: none">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. <p>Перечень практических навыков:</p> <ol style="list-style-type: none">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 Е-РОК.8. Рассчитать показатели фагоцитоза в готовых препаратах.
---	--

Занятие № 15: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Взаимодействие вирусов с чувствительными клетками. Особенности инфекционного процесса. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов.</p> <p>Механизмы противовирусного иммунитета. Принципы профилактики вирусных инфекций в практике врача-стоматолога.</p> <p>Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы культивирования вирусов (см. методичку).</p> <p>Вирусы бактерий (бактериофаги). Свойства, практическое применение.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 35-37, 46-57; [2], [4], [5] (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [8], [10] – (доп. литература)
--	---

Лабораторная работа

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



2. Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Фибробласты кур, эозин;
2. Культура Her2;
3. ЦПД аденовирусов
4. Реакция гемадсорбции.

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

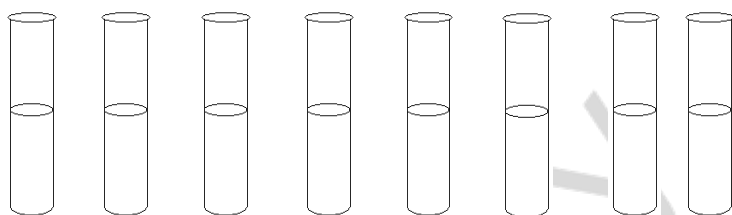
Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

<p>2. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p>Ингредиенты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - культура клеток, - разведения вируса 	<div style="display: flex; justify-content: space-around; text-align: center;"> <div>10^{-1}</div> <div>10^{-2}</div> <div>10^{-3}</div> <div>10^{-4}</div> <div>10^{-5}</div> <div>10^{-6}</div> <div>КК</div> <div>КВ</div> </div>  <p>Закключение:</p>
---	---

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.

Цветная проба. Суть этой реакции заключается в способности вируса подавлять обменные процессы в зараженных клетках. Определенной концентрацией клеток добавляют в пробирки через час после внесения в них смеси вируса с определенными разведениями на том, что клетки, размножаясь в незараженных пробирках или пробирках со смесью вируса и нейтрализовавших его продуктов обмена, которые снижают рН питательной среды. Это легко обнаруживают благодаря включенному в состав среды индикатору (обычно красному), цвет которого меняется в зависимости от рН среды. Красный цвет при рН 7,4.-7,8 становится оранжевым при рН 7,0.-7,2. При гибели клеток под воздействием вируса не наблюдается выделения достаточного количества кислых продуктов, поэтому индикатор не меняет цвета. Таким образом, по последнему разведению сыворотки, которое в присутствии добавленного вируса позволило избежать гибели клеток, определяют титр вируса. Обычно цвет среды определяют в пробирках, содержащих культуру клеток и аденовирусами.

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 (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 вирусологические методы незаменимы для диагностики вирусных 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 и снабдив диагностические лаборатории необходимой клинической информацией.

Выделение вируса из клинического материала осуществляется путем его инокуляции в культуру клеток, куриные эмбрионы и т.д. Идентификация вирусов, выделенных в этих системах, проводится с помощью серологических методов. Такие серологические методы используются только при вирусных инфекциях. РСК, РПГА, ИФА, РИА, ИФ, РП и др. используются для диагностики как вирусных инфекций, так и других 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. В большинстве случаев для серологической диагностики требуются парные сыворотки, взятые в острой фазе заболевания и спустя некоторое время и более повышения титра антител принято рассматривать в качестве диагностического признака острой вирусной инфекции.

4 группа — молекулярно-биологические методы индикации, идентификации и клонирования вирусов. Используются для обнаружения вирусспецифических фрагментов генома вирусов в материале.

Метод титрования бактериофагов по Грациа.

А. Готовят стерильные чашки с МПА для подложки (агар должен быть хорошо подсушен).

Б. Готовят серийные разведения фильтрата, содержащего искомый фаг 1:10, 1:100, 1:1000 и т.д.

В. 1мл каждого разведения смешивают с 0,1 мл фагочувствительной культуры и 2,5 мл расплавленного и охлажденного 0,7% агара, выливают и равномерно распределяют по агаровой подложке.

Г. Инкубируют при 37 С 24 часа.

Д. Подсчитывают зоны задержки роста (лизиса бактерий) в разведении, пригодном для репрезентативного подсчета. Активность фага выражают титром (последним разведением, в котором фаг еще проявляет литическое действие). Более точная характеристика – количество активных фагов в мл: $N = n$ (количество зон задержки роста) \times разведение. Например, на чашке с разведением 10^{-5} обнаружено 15 зон задержки роста бактерий. $N = 15 \times 10^5 = 1,5 \times 10^6$ частиц/мл исходного материала.

Вирусные включения

А. Вирусные включения, выявляющиеся в пораженных клетках, являются специфическими признаками вирусных инфекций.

Б. Были обнаружены еще Д.И. Ивановский и В.М. Шенкелем при исследовании скопления вируса табачной мозаики.

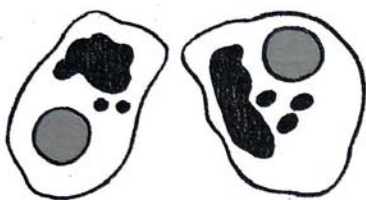
В. Обнаруживаются в ядре и/или в цитоплазме пораженных клеток.

Г. По характеру окрашивания различают вирусные включения.

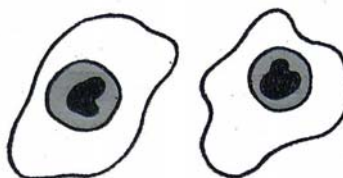
Д. Варьируют по форме, количеству и расположению в пораженной клетке.

Е. Характерные внутриядерные включения обнаружены при заражении вирусами герпеса, флавивирусами и др.

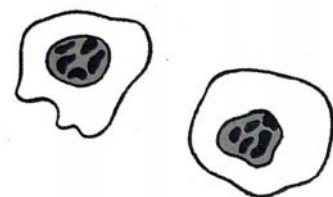
Ж. Характерные цитоплазматические включения обнаружены при заражении вирусами оспы, гриппа, кори, бешеной болезни и др.



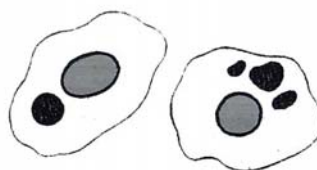
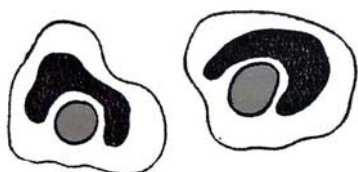
Клетки, зараженные вирусом оспы (тельца Гварниери)



Клетки, зараженные вирусом герпеса (тельца Каудри)



Клетки, зараженные аденовирусом



Клетки, зараженные реовирусом

Клетки, зараженные вирусом бешенства (тельца Бабеша-Негри)

Клетки, зараженные вирусом гриппа

Рис. 12. Внутриклеточные включения при вирусных инфекциях

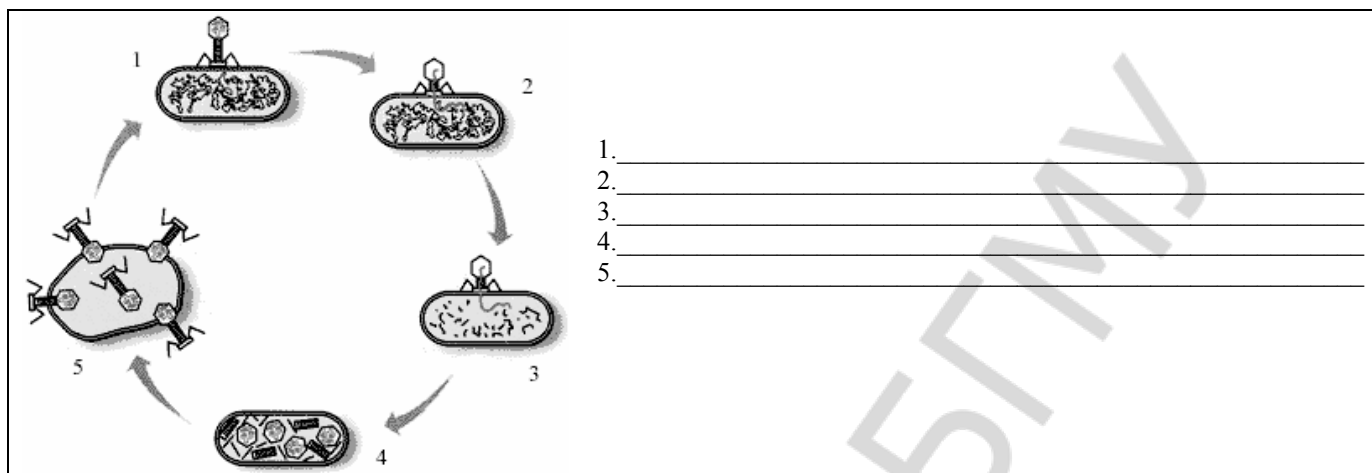


Рис. 13. Взаимодействие бактериофага с восприимчивой бактериальной клеткой

Заключение: _____

3. Учёт РТГА для определения типа вируса гриппа.

Учет РТГА с целью типирования вируса гриппа*

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

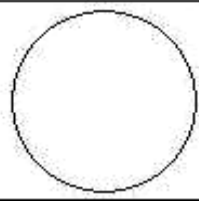
Заклучение: _____

* Для определения типа нейраминидазы ставят реакцию торможения нейраминидазы

Демонстрация.
1. Тельца Бабеша-Негри в гомогенате мозга мыши, окраска по Муромцеву

Препарат _____

Окраска _____

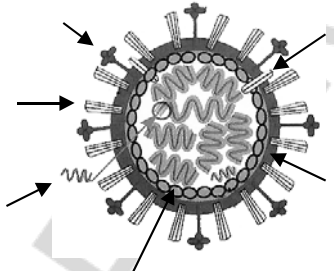


Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

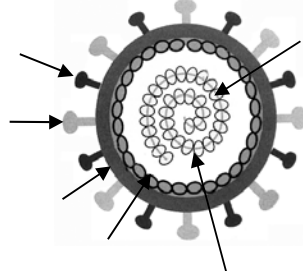
Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура _____ вирусов.



1. Гемагглютинин
2. Нейраминидаза
3. Суперкапсид
4. Матриксный белок М1
5. Белок М2
6. Рибонуклеопротеид

Структура _____ вирусов.



1. Гликопротеин F
2. Гликопротеин HN, H, G
3. Суперкапсид
4. Матриксный белок
5. Нуклеокапсид
6. РНК

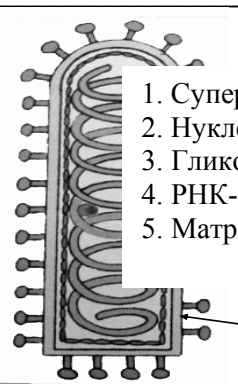
Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах*

1. Забор материала: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а

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 определенно-

<p>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.</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Заражение эмбриона 3. Инкубация 3-4 дня при 35°C 4. Вскрытие (см. занятие №2) 5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса 6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов). 	<p>го 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"> 1. Подготовка сывороток (разведение и удаление ингибирующих примесей: пропусканием CO₂, обработкой каолином, нагревание и др.). 2. Подготовка вирусного препарата (определение агглютининового титра) 3. Постановка РТГА. 4. Учет
--	--

<p>Структура</p> <p style="text-align: right;">вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> 1. Суперкапсид 2. Нуклеокапсид 3. Гликопротеины 4. РНК-полимераза 5. Матриксный белок 	<p style="text-align: center;">Диагностика бешенства</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материалом для исследования служит мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Также можно использовать ткань слонных 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). <ol style="list-style-type: none"> 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.
--	--

Занятие № 17: Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции, герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта.

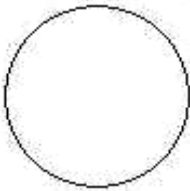
<p>Перечень изучаемых вопросов: Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика Патогенез, методы диагностики ВИЧ-инфекции. СПИД-ассоциированные заболевания. Проявления ВИЧ-инфекции в полости рта. Профилактика инфицирования.</p> <p>Герпесвирусы. Общая характеристика. Вирус простого герпеса. 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 277-280, 225-226, 2 [2], [4], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [8], [10] – (доп. литер
--	---

<p>Лабораторная работа</p> <p style="text-align: center;">Задание</p>	<p style="text-align: center;">Методы, результаты</p>
---	--

Зарисовать демонстрационные препараты:
ЦПД аденовирусов

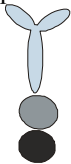

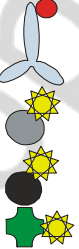
Препарат _____

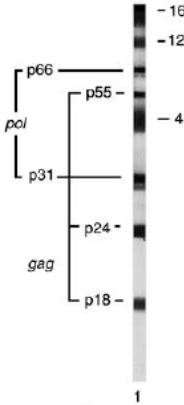
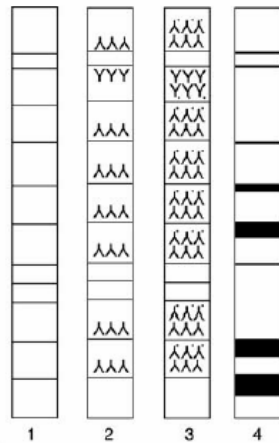
 Окраска _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17.

<p>ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</p> <p>В настоящее время применяются тест-системы для ИФА четвертого поколения (рекомбинантные антигены, моноклональные антитела, одновременное определение антигенов ВИЧ (обычно p24) и антител против антигенов ВИЧ (поверхностных гликопротеинов))</p>	<p>Схема постановки ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</p> <p>1. В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p>  <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>2. При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p>  <p>p24 антитела против гликопротеинов ВИЧ</p>
	<p>3. При добавлении конъюгатов:</p>  <p>происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.</p> <p>4. При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.</p>
<p>Диагностика ВИЧ-инфекции методом иммуноблоттинга</p>	



1. Изготовление блотов: электрофоретическое разделение белков ВИЧ по их молекулярной массе и заряду и перенос на мембрану.
2. Инкубация с исследуемой сывороткой
3. Инкубация с антителами против человеческих антител, мечеными ферментом
4. Появление окрашенных полос на мембране после инкубации в присутствии субстрата.
5. Положительный результат у инфицированного
6. Результат здорового, вакцинированного
7. Сомнительный результат у инфицированного
8. Сомнительный результат при наличии с p24 антигеном
9. Отрицательный результат

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура <u>герпетического</u> вирус.	Структура <u>ветряной оспы</u> вирус.	Структура <u>герпетического</u> вирус.	Структура <u>ветряной оспы</u> вирус.
<ol style="list-style-type: none"> 1. Суперкапсид 2. Гликопротеины 3. Икосаэдрический капсид 4. Капсомеры 5. Тегумент 6. ДНК вируса 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Гексон 2. Пентон 3. Фибриллярная нить 4. Головка 5. Белок рVI 6. ДНК 7. Праймер рTr 8. Протеаза р23 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (p6, 9) 3. Матричный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (p6, 9) 3. Матричный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41
<p>Вирусологическая диагностика герпетической инфекции</p> <p>А) Ранняя диагностика: морфологическое исследование ма-</p>		<p>Вирусологическая диагностика ветряной оспы</p>	

териалов 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 гематоксилин-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.
- Мазки окрашивают антителами, меченными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.
- Выделение вируса проводят на
 - 12-дневных куриных эмбрионах. Заражают на хорион-алантоисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37 С. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;
 - различных культурах клеток. Типичное ЦПД 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.

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

- Лучшим материалом для микроскопии вируса является содержимое свежих везикул: при микроскопии обнаруживаются вирусные частицы, выявляются многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями.
- Для быстрой идентификации вируса можно применить РИФ. Специфический антиген обнаруживается внеклеточно в виде ярких зерен и скоплений, а также в одно- или многоядерных клетках.
- Вирус выделяют на различных культурах клеток человека. Характерное ЦПД - образование многоядерных гигантских клеток (характерно для эпителиальных клеток) и скопления округлившись клеток (характерны для фибробластов). Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. При отсутствии ЦПД проводят пассажи на культуре клеток. При отсутствии ЦПД в третьем пассаже результат считают отрицательным. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.

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

Вирусологическая диагностика ВЭБ-инфекции

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

а. Проба Пауля—Бунелля — 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—Бунелля 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 боль-
---------------	-----------------	-----------------------------	-------------------

			ных, %
К антигенам капсида IgM IgG	Начало заболевания	4-8 недель	100
		Пожизненно	100
К ранним антигенам Анти-D Анти-R	3-5 неделя болезни 2 неделя – 4 месяц болезни	3-6 месяцев	70
		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 (HEK, HELA, A-549). Характерное ЦПД:
 - мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;
 - образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;
 - образование цитоплазматических и внутриядерных включений;
 - появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);
 - вирус идентифицируют (типировать) в РН, РИФ, РСК;
 - все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы;
 - электронная микроскопия имеет ограниченное применение.
3. Ретроспективная диагностика (эпидемиологическое значение): антитела выявляют в ИФА, РТГА, РСК, в парных сыворотках.

Занятие № 18: Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Пикорнавирусы. Общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Энтеровирусы. Общая характеристика, роль в патологии. Вирусы полиомиелита, коксаки и ЭКХО. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика полиомиелита.</p> <p>Стоматиты при заболеваниях, вызываемых РНК-овыми вирусами.</p> <p>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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 196-203, 248 – (учебники), 3. [3], [6] – (практикум) 4. [7], [8], [10] – (доп.)
---	---

Лабораторная работа

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

1. Учесть реакцию нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита (демонстрация).

1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 KC1 KB

1 сыворотка (при поступлении)

KC2

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 ₃	B		
NS ₄	C		
NS ₅	D		
CORE	E		
NS ₃	F	Положит. контроль	Сыворотка №2
NS ₄	G		
NS ₅	H		

1. Предлагаемый метод основан на наборе «РекомбиБест анти-ВГС – спектр» произведенной сыворотке крови человека антитела (IgG и IgM) к антигенам ВГС за счет их взаимодействия на поверхности планшета. Образование соответствующих комплексов ферментного конъюгата и последующей ферментативной реакции с образованием цвета.

2. Схема постановки:

- антигены ВГС сорбируются 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
- раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. ниже)
- заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37 °С;
- отмыть стрип 5 раз;
- раскапать 100 мкл конъюгата в каждую лунку;
- инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С;
- промыть стрип 5 раз;
- раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку;
- инкубировать в термостате 30 минут при 37° С;
- раскапать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку;
- учесть результаты на спектрофотометре;
- рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.

Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С
ФИО лаборанта _____

Дата _____

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

- Оценка верности постановки:
Среднее значение ОП отрицательного контроля $< 0,2$
Среднее ОП $K^- =$
Среднее значение ОП положительного контроля $> 0,8$
Среднее ОП $K^+ =$
- Расчет ОП критической для каждого антигена:
ОПкрит (core-Ag) = ОП K- (core) + 0,2 =
ОПкрит (NS₃-Ag) = ОП K- (NS₃) + 0,2 =
ОПкрит (NS₄-Ag) = ОП K- (NS₄) + 0,2 =
ОПкрит (NS₅-Ag) = ОП K- (NS₅) + 0,2 =

Врач-лаборант

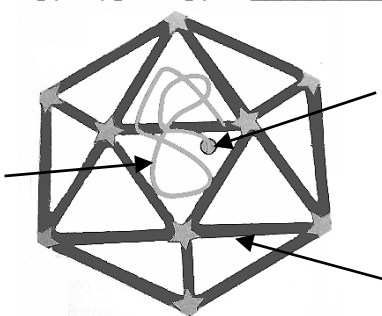
- Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена:
КП(core-Ag) = ОП иссл. сыв (core) / ОПкрит (core-Ag) =
КП(NS₃-Ag) = ОП иссл. сыв (NS₃) / ОПкрит (NS₃-Ag) =
КП(NS₄-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS₄) / ОПкрит (NS₄-Ag) =
КП(NS₅-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS₅) / ОПкрит (NS₅-Ag) =
- Интерпретация результатов:
а) если КП для каждого антигена менее 1, исследуемый
б) результат следует считать положительным, если КП
в) результат следует считать неопределенным, если КП

Подпись преподава

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 18.

Впишите название вируса, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура вируса _____

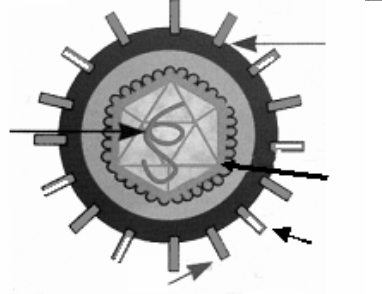


- Капсид
- РНК
- Кэпсидирующий белок VPg

Структура вируса _____

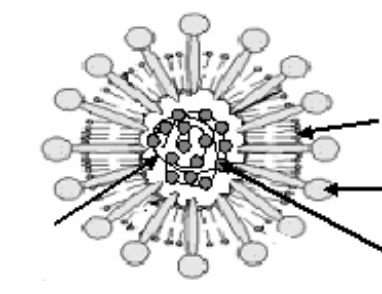


Структура вируса _____



- Суперкапсид
- Нуклеокапсид
- Гликопротеин E1
- Гликопротеин E2
- РНК

Структура вируса _____



Методы обнаружения HbsAg в материалах больных вирусным гепатитом В

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

- 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 окружающей среды (прием постановки диагноза)
Суммарные антитела к вирусу гепатита А (abHAV)	Показатель перенесенного в прошлом или переносимого в настоящее время вирусного гепатита А
Антитела класса М к вирусу гепатита А (abHAV-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита А

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
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 из критериев безопасности переливаемой крови или её препаратов. Контроль в группах риска та В при эпидемиологических исследованиях
Антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (abHBs)	Определение стадии развития гепатита В и прогноза течения заболевания, контроль за уровнем деления целесообразности и эффективности вакцинации. Определение распространения вирусов в популяциях. 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), маркер инфицированности вирусом гепатита В в прошлом или на данный момент. Используется в дифференциальной диагностике, определении распространенности вирусов в популяциях
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 для окружающих. Диагностика вирусных гепатитов, контроле за течением и прогнозировании исхода заболевания. Маркер активной репликации вируса гепатита В. Маркер неблагоприятного исхода (хронизации) вирусного гепатита В, если он обнаружен
Антитела к е-антигену вируса гепатита В (abHbe)	Определение стадии заболевания. Дифференциальная диагностика вирусных гепатитов. Маркер острого вирусного гепатита В
ДНК вируса гепатита В (DNA-HBV)	Высокая инфекционность крови больного. Активная репликация вируса. Дифференциальная диагностика вирусных гепатитов
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

Занятие № 1 (19): Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками.

<p>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.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 268-273.; [2], [5] – (ки), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литературу)
---	---

Лабораторная работа	
Задание	Методы, результаты

1. 2-й этап микробиологической диагностики стафилококковой инфекции:

- а) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА;
- б) постановка пробы на плазмокоагулазу.

1. 2-й этап исследования гноя, взятого от больного периоститом:

- а) изучить колонии на ЖСА;
- б) приготовить мазок из летициназа+ колоний с окраской по Граму;
- в) поставить пробу на плазмокоагулазу.

ЖСА

Цитратная кроличья плазма, 37°C, 2-4-24 (коагуляция)

Формы
Размеры
Положение
Краевые
Цвет
Консистенция
Прочие
Лептоспиралы

Препарат _____

Окраска _____

Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____

2. Зарисовать демонстрационный препарат: стафилококк в гное, окраска по Граму.

Препарат _____

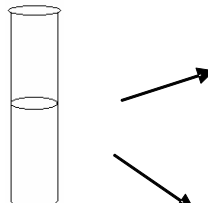
Окраска _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1 (19).


РЕПОЗИТОРИЙ

1. Провести 3-й этап микробиологической диагностики стрептококковых инфекций:
 а) описать характер роста в сывороточном бульоне;
 б) определить морфологию культуры в мазке, окраска по Граму;
 в) поставить реакцию кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка (см. п. 2)

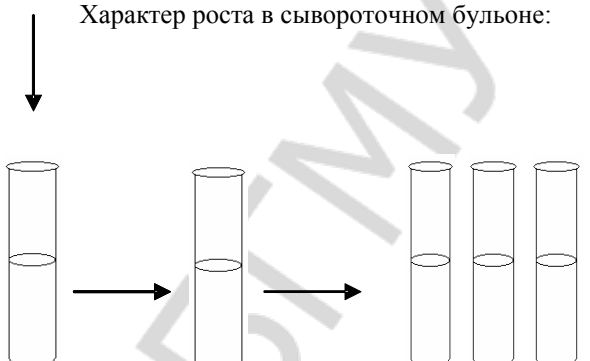


Препарат _____

Окраска _____



Характер роста в сывороточном бульоне:

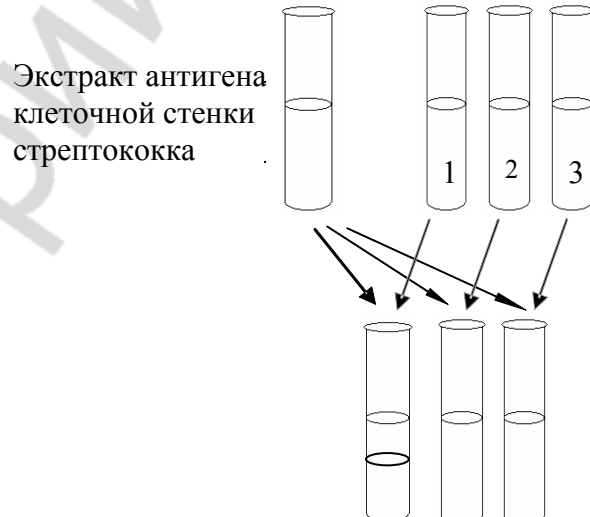


Получение экстракта стрептококка

Реакция кольцепреципитации для определения серогруппы

2. Поставить реакцию кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка
 а) подготовить три преципитационных пробирки, подписать: «К» - контроль, «А», «D»;
 б) во все пробирки добавить по 1 мл экстракта стрептококка;
 в) осторожно (по стенке пробирки, не допуская перемешивания реагентов) добавить по 1 мл сывороток в соответствующие пробирки;
 г) провести учет реакции.

Экстракт антигена клеточной стенки стрептококка



1- сыворотка
 2- сыворотка
 3 – нормальная сыворотка

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

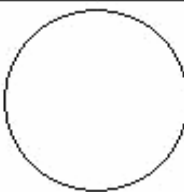
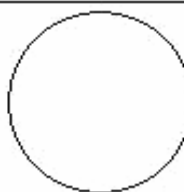
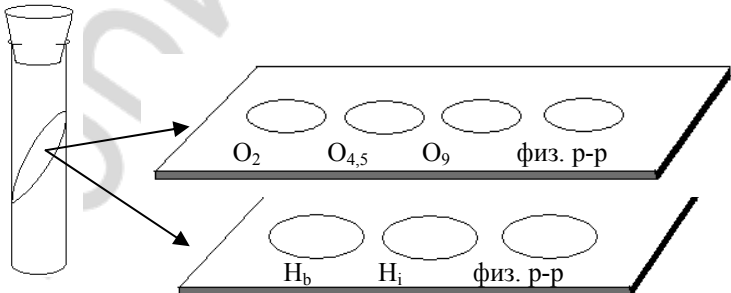
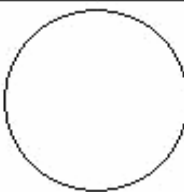
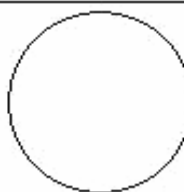
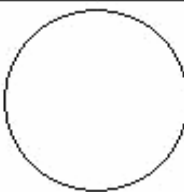
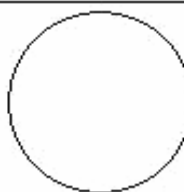
	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Микроскопический		
Культуральный		
Биологический		
Серологический		
Аллергический		
Молекулярно-генетический		

Идентификация стрептококков							
Виды	Рост в МПБ	Гемолиз (α , β , γ)	Р-я преципитации	Р-я набухания капсулы	Ферментация инулина	Проба с оптохином	Проба с желчью
<i>S. pyogenes</i>							
<i>S. pneumoniae</i>							
<i>E. faecalis</i>							

Занятие № 3 (21): Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых энтеробактериями.

<p>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</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 174-181; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)</p>
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
<p>Демонстрация</p> <p>1. Зарисовать демонстрационные препараты: а) чистая культура эшерихий, окраска по Граму б) чистая культура сальмонелл, окраска по Граму в) чистая культура шигелл, окраска по Граму</p> <p>2. Реакция агглютинации на стекле для идентификации сальмонелл.</p> <p>3. Биохимическая активность сальмонелл.</p> <p>4. Среды Эндо, Левина и Плоскирева (чистые и с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл).</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  </div>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____					
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____					

Подпись преподавателя _____

Методы диагностики брюшного тифа и паратифов в зависимости от периода болезни и стад

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

Классификация шигелл

Виды шигелл	Число серовариантов

Культуральный метод диагностики шигеллезов

Материал для исследования

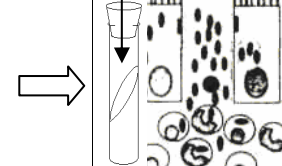
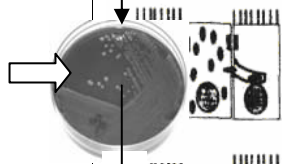
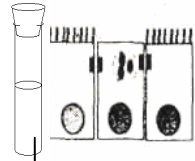
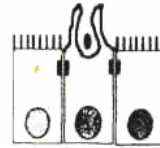
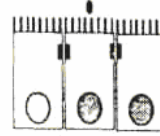
Среды выделения чистой культуры

Среда накопления чистой культуры

Дифференциация шигелл

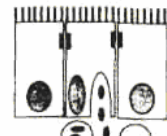
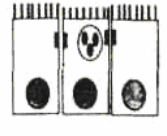
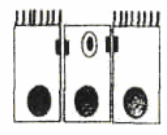
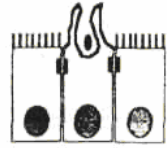
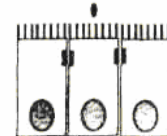
Признак	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Глюкоза с газом				
Лактоза				
Маннит				
Серогруппа				
Подвижность				
Молекулярно-генетический м-д				

ШИГЕЛЛЫ



АБСЦЕССЫ СЛИЗИСТОЙ КИШЕЧНИКА

САЛЬМОНЕЛЛЫ



Брыжеечные лимфатические узлы
КРОВОТОК

Патогенез шигеллезов и сальмонеллезов.

Основные возбудители

Культуральный метод диагностики сальмонеллезов

Материал для исследования

Среды для обогащения материала

Среды для выделения чистой культуры

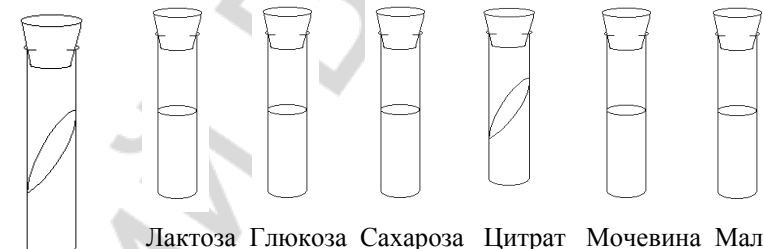
Среды для накопления чистой культуры

Методы идентификации сальмонелл

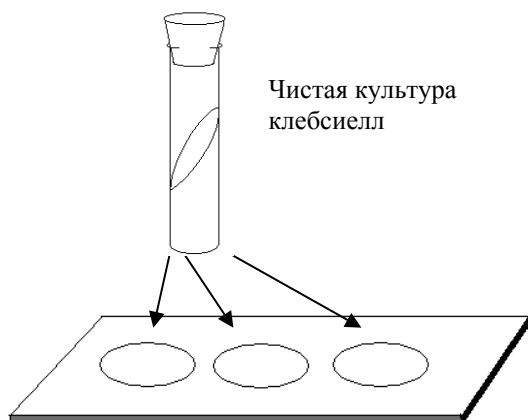
Занятие № 4 (22): Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами и псевдомонадами. Принципы диагностики пищевых отравлений.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Клебсиеллы, систематика, общая характеристика, роль в патологии. Синегнойная палочка, общая характеристика, роль в патологии человека. Этиология пищевых отравлений, принципы диагностики.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 191-193; [2], [5] – 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (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; 2. Провести учет РСК для диагностики склеромы.</p> <p>Дифференциальные питательные среды:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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. • Среда с лактозой, глюкозой, сахарозой (с индикатором бромтимоловым синим). Исходный цвет сред – зеленый (оливковый). При ферментации углевода – желтый цвет. При ферментации до кислоты и газа – желтый цвет среды и пузырек газа в поплавке. • 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. • Среда с малонатом натрия (тот же принцип, что и среда Симмонса). • Среда с мочевиной. При гидролизе мочевины (фермент уреазы) происходит защелачивание среды (индикатор Андрее) – красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы – цвет не изменяется (желтый). 	<div style="text-align: center;">  <p>Ресселя Лактоза Глюкоза Сахароза Цитрат Мочевина Малонат (среда Симмонса)</p> </div> <p style="text-align: right;">Дифференциация клебсиелл</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Биохимические свойства</th> <th style="width: 35%;"><i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i></th> <th style="width: 35%;"><i>K. pneumoniae s. ozaenae</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Глюкоза с газом</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+/-</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+/-</td> </tr> <tr> <td>Сахароза</td> <td style="text-align: center;">- (4 сутки +)</td> <td style="text-align: center;">+/-</td> </tr> <tr> <td>Цитрат аммония</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+/-</td> </tr> <tr> <td>Мочевина</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-/+</td> </tr> <tr> <td>Малонат натрия</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td>Индол</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td>Рост при 10°C</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td>O и K антигены</td> <td style="text-align: center;">O2a:K3</td> <td style="text-align: center;">O2b:K4</td> </tr> </tbody> </table>	Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>	Глюкоза с газом	-	+/-	Лактоза	-	+/-	Сахароза	- (4 сутки +)	+/-	Цитрат аммония	-	+/-	Мочевина	-	-/+	Малонат натрия	+	-	Индол	-	-	Рост при 10°C	-	-	O и K антигены	O2a:K3	O2b:K4
Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>																													
Глюкоза с газом	-	+/-																													
Лактоза	-	+/-																													
Сахароза	- (4 сутки +)	+/-																													
Цитрат аммония	-	+/-																													
Мочевина	-	-/+																													
Малонат натрия	+	-																													
Индол	-	-																													
Рост при 10°C	-	-																													
O и K антигены	O2a:K3	O2b:K4																													

Реакция капсульной агглютинации

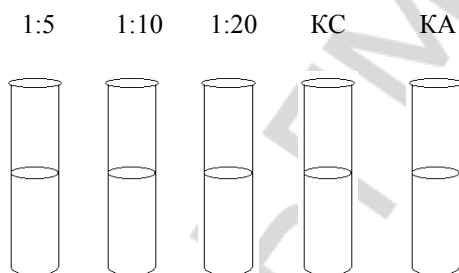


Сыв. К3 Сыв. К4 Физ. р-р

Заключение: _____

Учет РСК по схеме:

Вариант	Разведения сыворотки			КС	КА
	1:5	1:10	1:20		
1	++++	++++	++++	-	-
2	++++	++++	-	-	-
3	+++	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-



Заключение: _____

Демонстрация.

1. Рост клебсиелл на дифференциально-диагностических средах.
2. Капсула у клебсиеллы склеромы (окраска по Гинсу-Бурри).
3. Синегнойная палочка, чистая культура, окраска по Граму.
4. Проба на оксидазу.
5. Клебсиелла склеромы, окраска по Граму.
6. Рост синегнойной палочки на фурагиновом агаре.
7. Биохимические свойства клебсиелл.

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Подпись преподавателя _____

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

Возбудители	Вызываемые заболевания	Материалы для культуральной диагностики
<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>		
<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>		
<i>K. pneumoniae s. pneumoniae</i>		
<i>P. aeruginosa</i>		

Методы лабораторной диагностики

Метод	Использование метода (+/-)	
	Клебсиеллезы	Синегнойная инфекция
Микроскопический		
Культуральный		
Биологический		
Серологический		
Аллергический		
Молекулярно-генетический		

Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы

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

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

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

Лабораторная диагностика: выделение облигатно-патогенных или условно-патогенных энтеробактерий и вибрионов, стафилококков и их токсинов, стрептококков, бацилл, а также (по показаниям) - возбудителей и токсинов ботулизма.

Для оценки этиологической роли УПМ главным критерием является количественный. Этиологически значимое кол-во УПМ 10^5 - 10^6 и более КОЕ в 1 г. Диагноз более достоверный при одновременном обнаружении тех же микробов или токсинов в пищевых продуктах, явившихся причиной заболевания. Этиологическую роль микроба подтверждает его повторное выделение из материала больного, идентичность штаммов возбу-

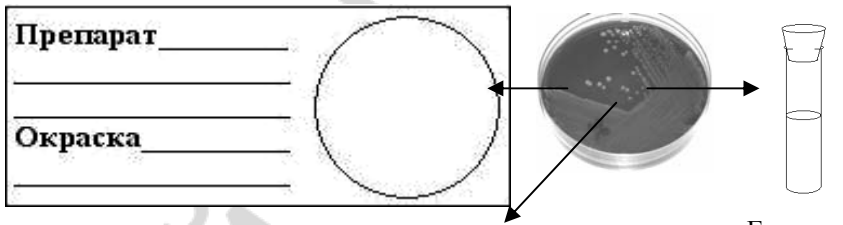
теля (по фаго- и сероварам) у большого числа больных при групповом пищевом отравлении, а также нарастание титра антител в динамике болезни.

Репозиторий БГМУ

Занятие № 5 (23): Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша.

<p>Перечень изучаемых вопросов: 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 207-209, 210-212.; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:</p> <p style="margin-left: 20px;">а) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде,</p> <p style="margin-left: 20px;">б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахара, крахмал).</p>	
<p>Демонстрация.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Коринебактерии дифтерии: а) по Нейссеру; б) по Леффлеру. 2. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии. 3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша. 4. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу. 5. Мазок по Граму из бордетелл коклюша. 6. Колонии бордетелл коклюша на чашках с КУА в стереоскопическом микроскопе. 7. РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета. 	<p>Признак Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия</p> <p>Форма _____</p> <p>Размер _____</p> <p>Поверхность _____</p> <p>Край _____</p> <p>Цвет _____</p> <p>Консистенция _____</p>
	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>
	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>

Подпись преподавателя _____

<p>Глюкоза</p> <p>Сахароза</p> <p>Крахмал</p> <p>Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация.</p> <p>Тест на токсигенность (реакция преципитации в геле)</p>	<p>Биохимические свойства некоторых коринебактерий</p> <p>Тесты на:</p> <p>уреазу</p> <p>цистеиназу</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">F</th> <th rowspan="2">S</th> <th rowspan="2">G</th> <th colspan="2">кислоты</th> <th rowspan="2">цистеина с образованием H₂S</th> <th rowspan="2">мочевины</th> </tr> <tr> <th>юзы</th> <th>крахмала</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <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>-</td> </tr> <tr> <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>+</td> </tr> <tr> <td>+</td> <td>-</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> <td></td> </tr> </tbody> </table>	F	S	G	кислоты		цистеина с образованием H ₂ S	мочевины	юзы	крахмала	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	X-бактерия						
F	S	G				кислоты				цистеина с образованием H ₂ S	мочевины																																										
			юзы	крахмала																																																	
+	+	+	+	+	+	-																																															
+	+	+	-	-	+	-																																															
-	-	-	-	-	-	+																																															
+	+	-	-	-	-	+																																															
+	-	+	+	+	+	+																																															
X-бактерия																																																					

Вывод: на основании морфологических и биохимических свойств идентифицирован _____

Характеристика коринебактерий и бордетелл

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

Факторы патогенности *C. diphtheriae*

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

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

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

Факторы патогенности *B. pertussis*

Фактор патогенности	Биологический эффект
Филаментозный геммагглютинин	Связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, связывается с R3 - гликопротеиновым рецептором поверхности ПМЯЛ и инициирует фагоцитоз
Коклюшный токсин (токсин пертуссин)	S1 - субъединица пертуссина рибозилирует мембранный белок Gi; токсин подавляет активность фагоцитов и миграцию моноцитов. S2 - субъединица связывается с гликолипидом поверхности клеток респираторного тракта; S3 - субъединица связывается с ганглиозидами поверхности фагоцитов
Пили	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
Пертактин	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
Аденилатциклаза	Подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов
Дерматонекротоксин	Повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных
Трахеальный токсин	Пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка)
Эндотоксин (ЛПС)	Активирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов

Дифференциация бордетелл

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

Занятие № 6 (24).: Методы микробиологической диагностики актиномикоза, туберкулеза.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Актиномицеты, систематика. Возбудители актиномикоза, общая характеристика. Методы микробиологической диагностики актиномикоза. Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулеза. Проявления туберкулезной инфекции в полости рта.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 213-215.; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).</p>
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты													
1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация (см. занятие 23)														
2. Микроскопия готовых мазков мокроты больного туберкулёзом, окраска по Цилю-Нильсену. Демонстрация. 1. Метод флотации. 2. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза. 3. Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену. 4. Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму. 5. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену. 6. Препараты для специфической профилактики туберкулеза.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Окраска _____</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____	Препарат _____		Окраска _____	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Окраска _____</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____	Препарат _____		Окраска _____
Препарат _____														
Окраска _____														
Препарат _____														
Окраска _____														
Препарат _____														
Окраска _____														
Препарат _____														
Окраска _____														
Подпись преподавателя _____														

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6 (24).

Характеристика актиномицетов и микобактерий			Микробиологическая диагностика специфическая профилактика туберкулеза и актиномикоза																
Признаки	<i>Actinomyces israelii</i>	<i>M. tuberculosis</i>																	
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="text-align: center;">Метод</th> <th style="text-align: center;"><i>Actinomyces israelii</i></th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Микроскопический</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Культуральный</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Серологический</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Биологический</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Молекулярно-генетический</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Аллергический</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Специфическая профилактика</td> <td></td> </tr> </table>	Метод	<i>Actinomyces israelii</i>	Микроскопический		Культуральный		Серологический		Биологический		Молекулярно-генетический		Аллергический		Специфическая профилактика	
Метод	<i>Actinomyces israelii</i>																		
Микроскопический																			
Культуральный																			
Серологический																			
Биологический																			
Молекулярно-генетический																			
Аллергический																			
Специфическая профилактика																			
Образование споры																			
Наличие капсулы																			
Наличие жгутиков																			
Окрашивание по Граму																			
Факторы патогенности																			

Занятие № 7 (25): Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций.

<p>Перечень изучаемых вопросов: 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>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 235-239, 258-260, 183-187; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>Демонстрация. 1. Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, ТСBS, пептонной воде, двухсахарном сахарозно-лактозном агаре. 2. Триада Хейберга. 3. Подвижность вибриона. 4. Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму. 5. Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру. 6. Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму. 7. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики ООИ. 8. Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму. 9. Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7 (25).

Характеристика возбудителей ООИ				
Признаки	<i>V. cholerae</i>	<i>Y. pestis</i>	<i>Brucella spp.</i>	<i>F. tularensis</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)				
Образование споры				
Наличие капсулы				
Наличие жгутиков				
Окрашивание по Граму				
Факторы патогенности				
Антигены				
Культуральные свойства				
Источник инфекции				
Пути передачи				

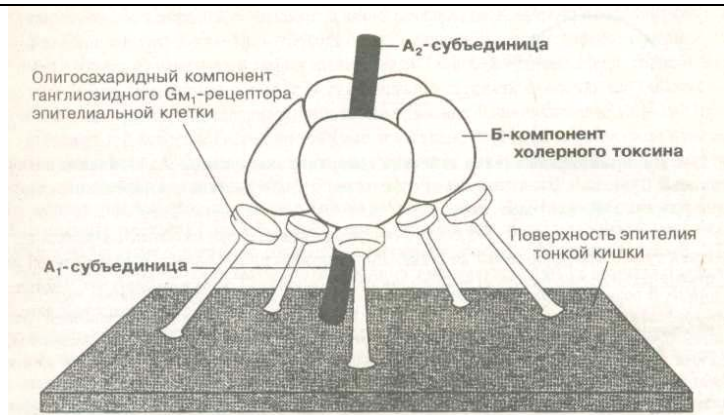


Рис. 17. Строение холерного экзотоксина (холерогена).
Факторы патогенности *Vibrio cholerae*

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

Факторы патогенности *Y. pestis*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген
Активатор плазминогена - протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует С3в и С5а
V/W(Vi)-АГ	состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий
Мышиный токсин	антагонист адренергических рецепторов, белковоподобное вещество, локализован внутриклеточно
Бактериоцины (пестицины)	иммуногенные свойства

Факторы патогенности *Bacillus anthracis*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора: летальный фактор – цитотоксический эффект, отек легких, протективный АГ – взаимодействует с мембранами клеток, опосредует активность др. компонентов, отечный фактор – повышение концентрации цАМФ, развитие отеков.
Капсула	Антифагоцитарная активность

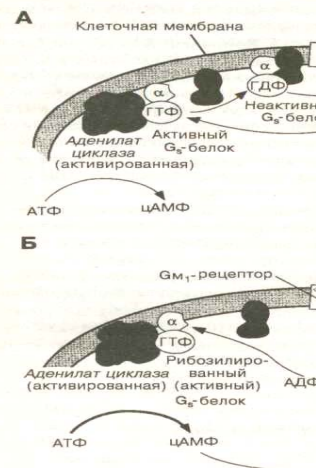


Рис. 18. Принципиальная схема действия холерного экзотоксина. В неактивированном состоянии С-белок связывается с ганглиозидом (ГДФ). Взаимодействие лиганда с G_s-белком. ГДФ замещается ГТФ. Взаимодействие последнего с высвобождением α-субъединицы, приводит к превращению АТФ в цАМФ. **Б. Действие** α-субъединицы холерного экзотоксина. α-субъединица катализирует активацию Аденилат циклазы. Последняя связывает ГТФ и активирует аденилатциклазу. Массированное образование цАМФ вызывает нарушение всасывания Na⁺ и K⁺.

Факторы патогенности *Y. pestis*

Факторы патогенности
Эндотоксин
Гиалуронидаза
Белки наружной мембраны
Внутриклеточный паразитизм

Факторы патогенности *B. anthracis*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование фагоцитоза благодаря способности проникать в макрофаги
Капсула	Защита от фагоцитоза
Эндотоксин	Системный эффект, повышение проницаемости сосудов, отек, эндотоксический шок, пример, E. coli

Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия особо опасных инфекций

Метод	Виды материала и использование методов (+/-)			
	Холера	Чума	Бруцеллез	Туляк
Микроскопический				
Культуральный				
Серологический				
Аллергический				
Биологический				
Молекулярно-генетический				
Специфическая профилактика				
Специфическая терапия				

Занятие № 8 (26).: Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Анаэробы, классификация, общая характеристика. Неспорообразующие анаэробы полости рта (стрептококки, пептококки, вейлонеллы, 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>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 261-265; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)</p>
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>Демонстрация: 1. Рост анаэробов на питательных средах. 2. Клостридии, окраска по Граму. 3. Бактероиды, окраска по Граму. 4. Вейлонеллы, окраска по Граму. 5. Анаэроостат.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>

Подпись преподавателя

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

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

Вейллонеллы	<i>Veillonella</i>	ГСИ
Грамположительные кокки		
Пептококки	<i>Peptococcus species</i>	ГСИ
Пептострептококки	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	

Характеристика некоторых анаэробных бактерий

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

Факторы патогенности *Clostridium perfringens*

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

Основные факторы патогенности *Clostridium tetani*

Факторы патогенности		Биологический эффект
Столбнячный экзотоксин	тетанолизин	
	тетаноспазмин	

Факторы патогенности *Bacteroides fragilis*

Факторы патогенности		Биологический эффект
Токсины	эндотоксин	обладает высокой токсичностью
	лейкоцидин	повреждает лейкоциты
Ферменты	коллагеназа	разрушает соединительную ткань
		тепловая лабильность
	ДНК-аза, гепариназа	высвобождает ДНК-фрагменты
		ингибирует свертывание крови
Поверхностные структуры клетки	фибринолизин	разрушает фибрин
	бета-лактамаза	разрушает белки
	капсула	защита от фагоцитоза
Метаболиты	летучие и жирные кислоты	уплотняют среду, способствуют образованию пленки

Основные факторы патогенности *Clostridium botulinum*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Ботулинический экзотоксин	Блокирует передачу импульсов в нервно-мышечных и нервно-нейроэндокринных синапсах, вызывает паралич (смертельный)

		человека сос- ло 0,3 мкг)
--	--	------------------------------

Лабораторная диагностика и специфическая профилактика анаэробных инфекций

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

Занятие № 9 (27): Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами.

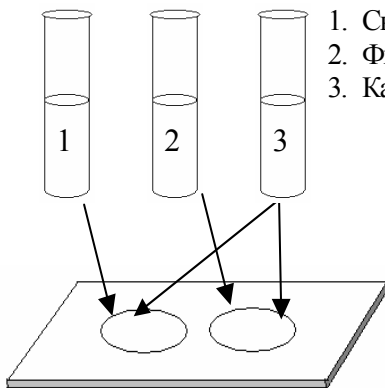
<p>Перечень изучаемых вопросов: Спирохеты, классификация, общая характеристика. Трепонемы. Систематика. Возбудитель сифилиса, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез сифилиса, проявления в полости рта. Материал для исследования. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса. Трепонемы полости рта, их роль в возникновении язвенно-некротических процессов мягких тканей полости рта. Фузоспирохетозы. Лептоспиры, боррелии. Роль в патологии человека. Возбудитель боррелиоза Лайма.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 265-266, 273-275, 217-219, [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)</p>
---	---

Лабораторная работа	
Задание	Методы, результаты

1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.
 2. Демонстрация РСК (реакции Вассермана) с целью диагностики сифилиса.

Реакция микропреципитации на стекле

Реакция Вассермана



- 1. Сыворотка пациента 1:20
- 2. Физ. раствор
- 3. Кардиолипидный антиген

Заключение:

Заключение:

3. Зарисовать демонстрационные препараты:
 а) боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе;
 б) трепонема в зубном налёте;
 в) бледная трепонема, чистая культура, окраска по Романовскому-Гимзе.

Препарат _____

Окраска _____

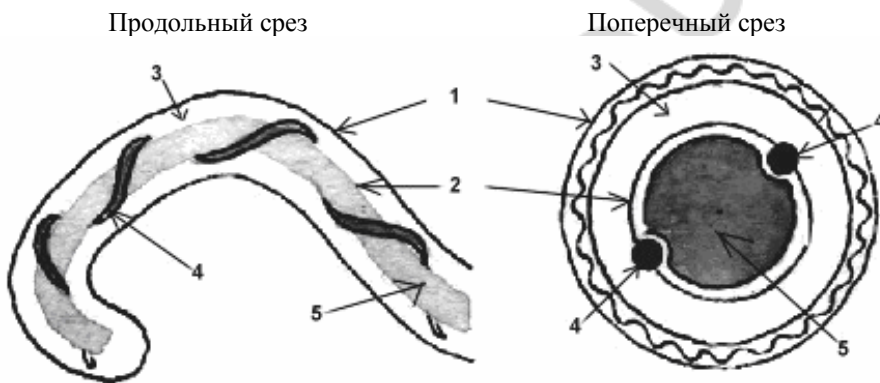
Препарат _____

Окраска _____

Подпись преподавателя

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

Строение спирохет (схема):



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

Основные признаки патогенных д

Показатель		Род	
		<i>Treponema</i>	
Размеры	Длина	5-20 мкм	3
	Толщина	0,09-0,5 мкм	0,
Количество завитков		8-12	
Форма завитков		Равномерные, правильные	Неравн
Форма клетки (нарисуйте)			
Окрашивание по Романовскому-Гимзе		Розовый цвет	фи
Культуральные свойства			
Антигены			
Факторы патогенности			

Серологическая диагностика сифилиса:

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

Для подтверждения диагноза применяются:

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

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

Лабораторная диагностика болезни

Микроскопический метод: темное поле, выявление возбудителя в пораженных кожных поражениях, центрифугат плазмы, прегнированных серебром, РИФ, элек

Культуральный метод: в 80% случаев выявление возбудителя из кожных поражений (1 стадия болезни)

Молекулярно-генетический метод: выявление возбудителя в образцах кожи, крови, спинномозговой жидкости

Серологический метод: ИФА, непрямой метод, выявление ложнопозитивных результатов при других заболеваниях (сифилисом, мононуклеозом, ревматоидном артритом, другим иммунным ответом антиборрелиозных болезней).

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

Занятие № 10 (28): Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами.

<p>Перечень изучаемых вопросов: 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>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] С. 265-266, 273-275, 217-219; [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																		
1. Учет РСК с целью диагностики сыпного тифа.	Реагенты	1 1:20	2 1:40	3 1:80	4 1:160	5 1:320	КС	КА	Гем. система: 4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сы-воротки										
	Физ. р-р	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5											
	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											
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ </td> <td style="width: 10%; text-align: center; vertical-align: middle;"> </td> <td style="padding: 5px;"> минут при 37° С 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 </td> <td style="padding: 5px;"> минут при 37° С _____ _____ _____ _____ </td> <td style="padding: 5px;"> </td> </tr> </table>	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____		минут при 37° С 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0	минут при 37° С _____ _____ _____ _____		Заключение: _____													
Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____		минут при 37° С 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0	минут при 37° С _____ _____ _____ _____																
Демонстрация. 1. РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа. 2. Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе. 3. Риккетсии Провачека в чистой культуре.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Препарат _____</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">_____</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Окраска _____</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">_____</td> </tr> </table>		Препарат _____	_____	Окраска _____	_____				
Препарат _____																			

Окраска _____																			

		○	○	○	○	○	○	○	○	Заключение: _____									

Подпись преподавателя _____

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

Современная классификация риккетсий:

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

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

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

порядок <i>Rickettsiales</i>			
↓		↓	
семейство <i>Ehrlichiaeae</i>		семейство <i>Rickettsiaceae</i>	
↓		↓	
род <i>Ehrlichia</i>	род <i>Orientia</i>	род <i>Rickettsia</i>	
↓ ↓ ↓	↓	↓	↓
группа <i>E. canis</i> вид: <i>E. chaffeensis</i> группа <i>E. sennetsu</i> вид: <i>E. sennetsu</i> группа <i>E. phagocytophila</i> вид <i>E. equilike</i> (<i>E. phagocytophila</i>)	Вид <i>O. tsutsugamushi</i>	группа сыпного тифа, виды: <i>R. prowazekii</i> <i>R. typhi</i> <i>R. felis</i>	группа клещевых риккетсиозов, виды: <i>R. rickettsii</i> <i>R. conorii</i> <i>R. sibirica</i> <i>R. akarii</i> <i>R. japonica</i> <i>R. australis</i> <i>R. honei</i>

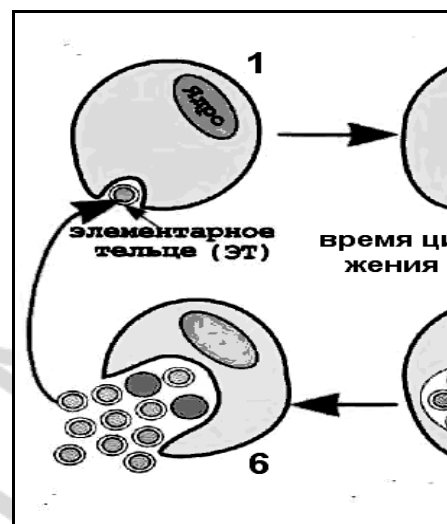


Рис. 20. Схема внутриклеточного цикла риккетсии.

Вставьте соответствующие номера в таблицу:

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

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

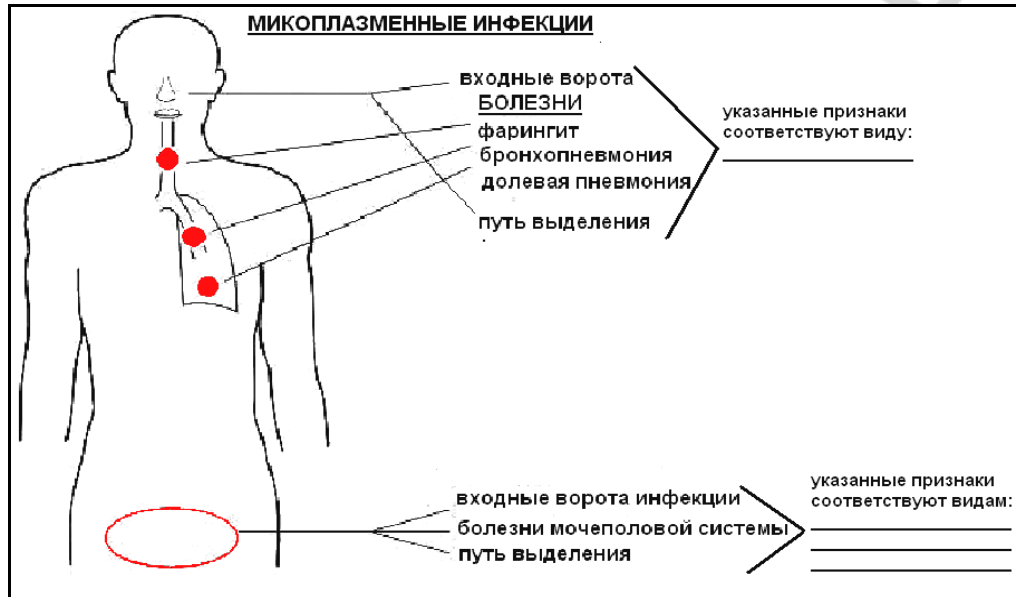
Метод	Использование (+/-) метода при:		
	риккетсиозах	хламидиозах	микоплазмозах
Микроскопический			
Культуральный	Питательная среда		
	Куриный эмбрион		
	Культура клеток		
	Лабораторное животное		
Биологический			
Серологический			
Аллергический			
Молекулярно-генетический			

Характеристика

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

Характеристика

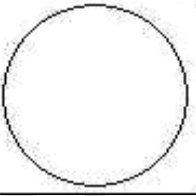

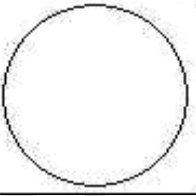

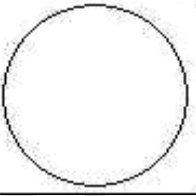

Свойство, признак
Размеры
Клеточная стенка, пептидогликан
Окрашивание по Граму
Капсула
Жгутики
Споры
Устойчивость к физическим химическим факторам
Культуральные свойства, колонии
Размножение
Особенности паразитизма
Источник инфекции
Механизмы передачи инфекции
Иммунитет



Занятие № 11 (29): Методы микробиологической диагностики МИКОЗОВ.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Морфология и классификация грибов. Микозы, классификация. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Кандидозные стоматиты. Методы микробиологической диагностики.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] С. 282-284; [2], [5] – (учеб) 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
<p>1. Исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки полости рта при кандидомикозах.</p> <p>2. Демонстрация:</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 border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 30%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> <td style="width: 30%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 30%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			

Подпись преподавателя _____

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

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.

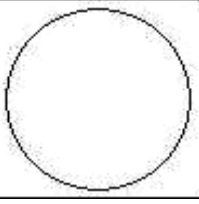
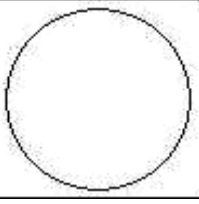
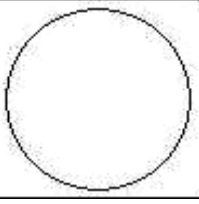
Молекулярно-генетический метод. Используют молекулярную гибридизацию и ПЦР. Достоинство – возможность применения на ранних стадиях болезни.

Занятие № 12 (30): Итоговое занятие по теме: "Частная микробиология".

<ol style="list-style-type: none">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.	<ol style="list-style-type: none">19. Классификация анаэробов, общая характеристика. Роль в патологии полости рта.20. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Принципы терапии и профилактики столбняка. Возбудитель столбняка. Патогенез, принципы терапии и профилактики столбняка.21. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Принципы профилактики ботулизма.22. Принципы диагностики анаэробных инфекций.23. Классификация и общая характеристика пирозов.24. Классификация трепонем и трепонемозов. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики трепонемозов. Методы диагностики сифилиса. Спирохеты.25. Риккетсии, хламидии, микоплазмы. Общие принципы диагностики.26. Патогенные грибы. Классификация. Кандидозы. Условия, способствующие возникновению кандидозов.27. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Диагностика кандидоза. <p>Практические навыки:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Определить морфологию стафилококка,2. Определить морфологию стрептококка,3. Определить морфологию гонококка в гонорее,4. Определить морфологию энтеробактерий,5. Определить морфологию смеси стафилококков,6. Определить морфологию бацилл сибирского язвенника,7. Определить морфологию вибриона, чистая культура,8. Определить морфологию бактериоидов, чистая культура,9. Определить морфологию кандид, чистая культура,10. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура.11. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура.12. Определить морфологию микобактерий, чистая культура.
---	--

**Занятие № 13 (31): Стоматологическая микробиология.
Методы изучения нормальной микрофлоры
полости рта.**

<p>Перечень изучаемых вопросов: стоматологическая микробиология, цели и задачи.</p> <p>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.</p> <p>Дисбактериоз полости рта, причины, методы диагностики.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)
--	---

Лабораторная работа	Методы, результаты		
Задание			
1. Приготовить мазок из зубного налета, окрасить по Граму.	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 60%;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 40%; text-align: center;">  </td> </tr> </table>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			
2. Провести посев нормальной микрофлоры полости рта.	<ol style="list-style-type: none"> 2. Открыть пробирку со стерильным физ. раствором, обжечь край на спиртовом пламени. 3. Фламбировать пинцет (не прокалывать!). 4. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность слизистой и др. на 30 секунд; 5. Поместить бумагу на поверхность кровяного агара (отпечаток) той же стороной; 6. Бумагу удалить. 7. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24-48 час. 		
3. Провести посев микрофлоры полости рта и кожи предплечья на дисбактериоз.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Выполнить пп. 1, 2 задания 2. 2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на поверхность кожи предплечья. 3. Поместить бумагу на поверхность среды Эндо (отпечаток) той же стороной. 4. Выполнить пп. 5, 6 задания 2. <p>Аналогично провести посев слюны.</p>		

Подпись преподавателя _____

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

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>Veilonella</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Candida</i>
<i>Peptococcus</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Treponema</i>	Плесневые
<i>Staphylococcus</i>	<i>Branchamella</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Leptotrichia</i>	<i>Borrelia</i>	грибы
		<i>Corynebacterium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Leptospira</i>	<i>Mycoplasma</i>
		<i>Bifidobacterium</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Entamoeba</i>
			<i>Mitsuokella</i>	<i>Volinella</i>	<i>Trichomonas</i>
			<i>Moraxella</i>	<i>Centipeda</i>	
			<i>Haemophilus</i>	<i>Selenomonas</i>	

Определите свойства оральных стрептококков

Характеристика

S. mutans

S. sanguis

S. mitis

S. milleri

S. salivarius

Вид гемолиза (α , β , γ)

Расположение (по одиночке, парами, цепочками, кучками)

Способность к разложению углеводов с образованием молочной кислоты

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 края 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 удается культивировать на питательных средах.

Микробиологическая диагностика дисбактериоза

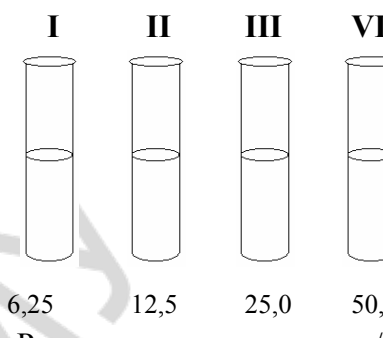
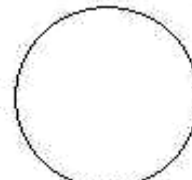

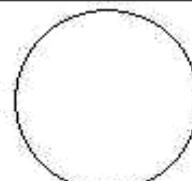

Диагноз дисбактериоза полости рта и ротоглотки устанавливается повторным (с интервалом в 5-7 дней) бактериологическим исследованием с использованием методик количественного определения видов и вариантов микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза.

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*),

<p>Бактериологический метод. Применяют для биотопов с широким спектром микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина), выполняют с учетом данных бактериоскопии.</p>	<p>желчно-кровяной МПА (для энтерококков), кровяной МПА (для стрептококков и гемолитических штаммов бактерий и кокков), МПА с фурагином (для <i>P. aeruginosa</i>), 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 отсевают 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 × 20 × 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 агемолитических стрептококков, лактобацилл и других грамположительных палочек появляются бактерии фекального происхождения (условно-патогенные энтеробактерии и энтерококки), <i>P. aeruginosa</i> (в количествах 10⁴ и больше).</p>
<p>Основные принципы бактериологического исследования нормальной микрофлоры:</p> <p>а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера СО₂ и т.д.).</p> <p>Методы взятия материала для исследования:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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. 	

Занятие № 14 (32): Методы изучения факторов иммунитета полости рта.

<p>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.</p> <p>Клеточный иммунитет. Механизмы антибактериального и антивирусного иммунитета в полости рта.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература). 		
<p>Лабораторная работа</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center;">Задание</td> <td style="width: 50%; text-align: center;">Методы, результаты</td> </tr> </table>		Задание	Методы, результаты
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>	
<p>2. Провести учет посевов нормальной микрофлоры полости рта и посевов для выявления дисбактериоза. 3. Демонстрация: а) определение секреторного иммуноглобулина А слюны; б) метод определения лизоцима в слюне.</p>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 
	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 

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

Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка

Определяется массивность роста бактерий (+ единичные колонии, ++ обильный рост, но колонии не сливаются, +++ сливной рост колоний).

Из колоний, различающихся по форме, цвету, поверхности, гемолитической активности, делаются мазки с окраской по Граму и зарисовываются в альбом.

Диагностика состояния дисбактериоза

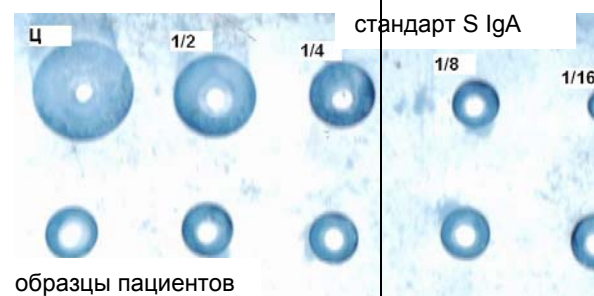
Изучается рост на среде Эндо с посевами отпечатков с кожи внутренней стороны предплечья и слюны. В случае обнаружения роста малиново-красных с металлическим блеском колоний, в которых при окраске по Граму видны грамотрицательные палочки, подтверждается наличие состояния дисбактериоза.

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

1. Принцип. Простая радиальная иммунодиффузия выполняется на стеклянных пластинках 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



<p>диаметра зон преципитации стандартной пробы калибровочного графика (рис. 2), г) определение по графику количественного содержания секреторный иммуноглобулинов А в опытный 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.</p>	
<p>Лизоцим - низкомолекулярный белок, который синтезируется клетками системы полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитарных фагоцитов. Находится в аутофильных 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 <i>Micrococcus lysodeiaticus</i>. 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.</p> <p>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 <i>Bacillus subtilis</i>.</p>	
<p>Дайте характеристику защитным механизмам слюны</p>	
<p style="text-align: center;">Функция</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Минерализация 2. Механическое удаление м/о 3. Дезинтоксикационная 4. Антимикробные факторы слюны: <ol style="list-style-type: none"> 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 	<p style="text-align: center;">Защитный механизм</p>
<p>Дайте характеристику защитным механизмам слизистых оболочек</p>	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Чем обусловлена барьерная функция 2. Механизм удаления м/о 3. Фагоцитоз 	
<p>Дайте характеристику защитным механизмам десневой жидкости (фагоциты, комплемент)</p>	

Дайте характеристику защитным механизмам эмали зуба

Репозиторий БГМУ

**Занятие № 15 (33): Клиническая стоматологическая микробиология.
Методы исследования микрофлоры при
заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта.
Этиология и патогенез кариеса.**

<p>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. <i>Streptococcus mutans</i>, 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.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Учесть опыт определения содержания лизоцима в слюне.</p>	<p>30 Диаметр зоны задержки роста, мм</p>  <p>Стандарты лизоцима в слюне: 6,25, 12,5, 25, 50 мкг/мл</p> <p>Концентрация лизоцима, мкг/мл</p> <p>Заключение о содержании лизоцима в слюне составляет</p>
<p>2. Демонстрация: методы взятия материалов.</p>	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15 (33).

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

Занятие № 16 (34): Клиническая стоматологическая микробиология. Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта (продолжение).

<p>Перечень изучаемых вопросов: 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Провести 1-ый этап исследования гноя больного с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области:</p> <p>а) приготовить мазок с окраской по Граму, микроскопировать;</p> <p>б) провести количественный посев на различные питательные среды.</p>	<p style="text-align: center;">Исследование гноя (I этап)</p> <div style="text-align: center;"> <p style="text-align: center;">Гной → 0,1 мл → 9,9 мл физ. р-р → 0,1 мл → 0,1 мл</p> <p style="text-align: center;">Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <p style="text-align: center;"> 10⁻⁴ 10⁻² 10⁻⁶ 10⁻⁴ 10⁻² 10⁻⁶ 10⁻⁴ 10⁻² 10⁻⁶ </p> <p style="text-align: center;">ЖСА Левина МПА с фурагином</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <div style="float: right; border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 60px; height: 60px; margin-left: 10px;"></div> </div>
<p>2. Провести исследование крови больного стоматогенным сепсисом:</p> <p>а) посев на среду обогащения (сахарный бульон).</p>	<p style="text-align: center;">Кр 10</p>

Наиболее значимые (преобладающие) микроорганизмы при следующих типах одонтогенного воспаления

Микроорганизм	Тип воспаления			
	серозное	Экссудативное гнойное	гнилостное	Аль
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		Дистрофически-воспалительная форма		Формы Дистрофич форм
Инфекционная этиология		+		-
Наличие воспаления		+		-
Гноетечение		+		-
Наличие патологического зубодесневого кармана		+		-
Рецессия десны		+		+
Дистрофия периодонта и костной ткани		+		+
Миграция зубов		+		+
Одонтогенное воспаление.				
Кариозная полость	Гингивит	Дайте характеристику следующих типов 1. Экссудативное 2. Альтернативное 3. Пролиферативное		
Пульпит	образование патологического десневого кармана			
Апикальный периодонтит	маргинальный периодонтит			
	периостит челюсти остеомиелит челюсти околочелюстные абсцессы и флегмоны			

**Занятие № 17 (35): Клиническая микробиология (продолжение).
Микробиологическая гнойно-септических инфекций
bronхо-лёгочной системы, уросистемы.
Внутрибольничные инфекции.**

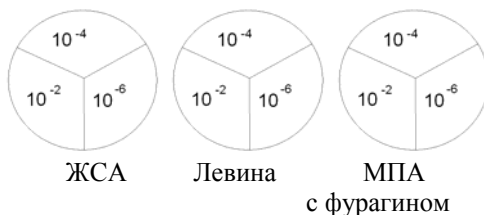
<p>Перечень изучаемых вопросов: характеристика стоматогенных заболеваний. Гнойно-воспалительные стоматогенные заболевания мягких тканей и костей челюстно-лицевой области. Возбудители, патогенез, методы диагностики. Материал для исследования, правила и методы взятия. Методы микробиологической диагностики. Схема бактериологического исследования гноя. Критерии оценки этиологической роли выделенных микробов. Определение чувствительности к антибиотикам.</p> <p>Стоматогенный сепсис. Возбудители. Методы диагностики. Схема бактериологического исследования крови. Правила взятия крови.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники) 3. [3], [6] – (практикумы) 4. [7], [10] – (доп. литература)
---	---

Лабораторная работа

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

1. Провести 2-ой этап исследования гноя больного с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области:
 а) изучить колонии микроорганизмов на питательных средах;
 б) провести количественный учет роста микроорганизмов;
 в) провести идентификацию выделенной культуры.

Исследование гноя (II этап)



Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

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

n – кол-во колоний на секторе,

20 – коэф. перерасчета на 1 мл,

10^x – степень разведения материала.

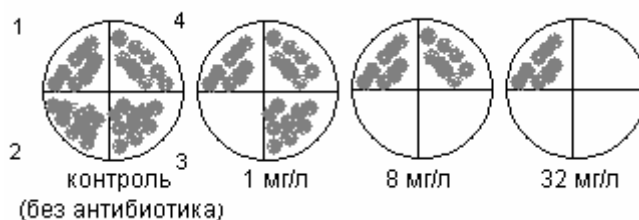
N = _____ КОЕ/мл

Заключение: _____

Парафенилендиамин

Тест на окраску

г) определить чувствительность к антибиотикам.



Заключение: минимальная ингибирующая концентрация антибиотика составляет:

для культуры №1 _____ мкг/мл, для культуры №2 _____

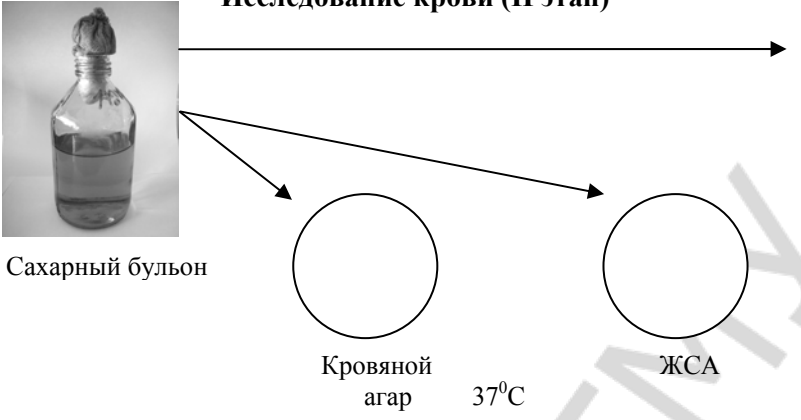
мкг/мл,

для культуры №3 _____ мкг/мл, для культуры №4 _____

мкг/мл.

Антибиотикограмма:

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата

<p>2. Провести второй этап исследования крови больного стоматогенным сепсисом:</p> <p>а) приготовить мазок с окраской по Граму;</p> <p>б) провести посев на ЖСА и КА для выделения чистой культуры.</p>	<p style="text-align: center;">Исследование крови (II этап)</p>  <p style="text-align: center;">Сахарный бульон</p> <p style="text-align: center;">Кровяной агар 37°С</p> <p style="text-align: center;">ЖСА</p> <p style="text-align: right;">Препарат _____</p> <p style="text-align: right;">Окраска _____</p>
<p>3. Демонстрация:</p> <p>а) количественный посев синегнойной палочки на фурагиновом агаре.</p>	

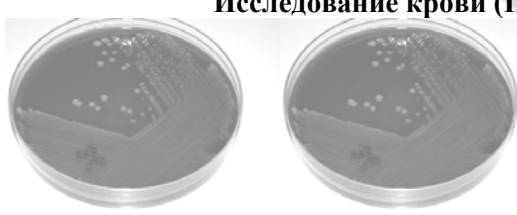

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17 (35).

ХАРАКТЕРИСТИКА СТОМАТОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Клинические формы	Этиология	Условия
Бактериemia	Нормальная микрофлора полости рта	Экстракция зуба Периодонтит
Сепсис	Энтерококки Пиогенные стрептококки групп А, В, F, H Пневмококки Кишечная палочка. Бактероиды, Фузобактерии, Вейлонеллы	Те же + нарушение иммунного статуса
Бактериальный шок	Липополисахариды грамотрицательных бактерий Альфа-токсин стафилококков Лецитиназа клостридий	Вскрытие очага хронической инфекции Переливание инфицированной крови
Эндокардит	Стрептококки сангвис Стрептококки митис Энтерококки Кандиды Стафилококки патогенные Бактероиды Псевдомонас аэругиноза Клебсиелла пневмонии	Снижение иммунитета на фоне антибактериальной терапии Алкоголизм Норкомания Длительное лечение антибиотиками
Аспирационные бронхоневмонии	Спирохеты Порфиромоны Анаэробные стрептококки Фузобактерии Пропионибактерии Бактероиды Вейлонеллы Кишечные палочки Псевдомонас аэругиноза Превотеллы	Периодонтит Иммунодефицит Нарушение глотания Фузоспирохеты
Заболевания слюнных желез	Нормальная микрофлора полости рта Вирус эпидемического паротита Цитомегаловирус Трепонема паллидум	Нарушение оттока слюны Лекарственное обезвоживание
Хейлиты	Микобактерии туберкулезис и бовис Кандида альбиканс Стафилококки патогенные	Иммунодефицит Авитаминоз В ₂ Носительство патогенного стафилококка в полости носа и полости рта

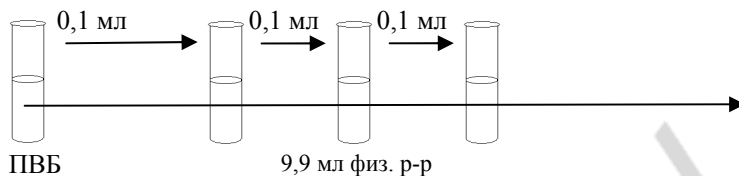
Занятие № 18 (36): Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики стоматогенных аспирационных бронхо-легочных заболеваний. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике.

<p>Перечень изучаемых вопросов: стоматогенные бронхо-легочные заболевания. Возбудители. Патогенез. Условия возникновения. Материалы для исследования, правила и методы забора. Методы микробиологической диагностики. Схема бактериологического исследования мокроты, промывных вод бронхов. Критерии этиологической роли выделенных микробов. Определение чувствительности к антибиотикам.</p> <p>Внутрибольничные инфекции, определение, особенности в практике врача-стоматолога. Возбудители. Принципы диагностики. Противоэпидемические мероприятия в стоматологической практике.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [5] – (учебники), 3. [3], [6] – (практикумы), 4. [7], [10] – (доп. литература)
---	---

Лабораторная работа	
Задание	Методы, результаты
<p>1. Окончание исследования крови больного стоматогенным сепсисом (идентификация выделенной культуры):</p> <ol style="list-style-type: none"> а) учесть рост микроорганизмов на ЖСА и КА; б) приготовить мазок с окраской по Граму; в) поставить пробу на плазмокоагулазу. 	<p style="text-align: center;">Исследование крови (III этап)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-left: 20px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> </div> <p style="margin-left: 100px;">Кровяной агар ЖСА</p> <p>Характеристика колоний:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Заключение: _____</p> <div style="margin-top: 20px;">  <p>Тест на плазмокоагулазу</p> <p>Цитратная плазма</p> <p>2, 4 (коагулат)</p> </div>

2. Провести исследование промывных вод бронхов больного пневмонией

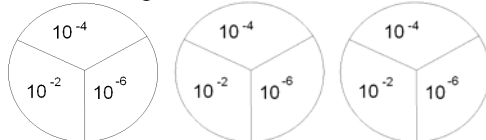
Исследование ПВБ (I этап)



Препарат _____

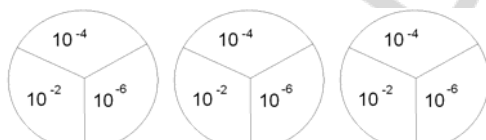
Окраска _____

Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)



Кровяной агар Левина ЛБТА

Исследование ПВБ (II этап)



Кровяной агар Левина ЛБТА

Препарат _____

Окраска _____

Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

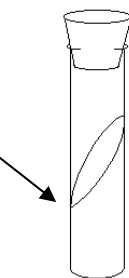
$$N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x, \text{ где:}$$

n – кол-во колоний на секторе,

20 – коэф. перерасчета на 1 мл,

10^x – степень разведения материала.

N = _____ КОЕ/мл



Среда Рессе

Подпись преподавателя _____

Занятие № 19 (37): Итоговое занятие по теме «Стоматологическая микробиология и вирусология».

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

Литература

Основная

1. *Воробьев, А. А.* Микробиология : учеб. / А. А. Воробьев. М. : Медицина, 1994. 228 с.
2. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. М. : МИА, 2001; 2005. 736 с.
3. *Борисов, Л. Б.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Л. Б. Борисов. М., 1994.
4. *Букринская, А. Г.* Вирусология : учеб. пособие для мед. ин-тов / А. Г. Букринская. М. : Медицина, 1986. 336 с.
5. *Коротяев, А. И.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учеб. для мед. вузов. / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб : Специальная литература, 1998. 592 с.
6. *Павлович, С. А.* Медицинская микробиология : практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск : Выш. шк., 1993. 200 с.

Дополнительная

7. *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.
8. *Вирусология (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций) : учеб.-метод. пособ. / Л. П. Титов [и др.].* Минск : БГМУ, 2003. 76 с.
9. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. Минск : БГМУ, 2006. 40 с.
10. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник. / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. 2-е изд., доп. и перераб. Минск : Асар, 1999. 400 с.
11. *Ройт, А.* Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл ; пер. с англ. М. : Мир, 2000. 592 с.
12. *Слизень, В. В.* Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ, 2007. 48 с.
13. *Титов, Л. П.* Иммунология : терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2002, 2004. 213 с.
14. *Титов, Л. П.* Особенности строения, развития и функционирования иммунной системы детского организма : учеб.-метод. пособие / Л. П. Титов, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.
15. *Черношей, Д. А.* Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.

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	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	Rickettsia	<i>R.prowazekii</i> , <i>R.typhi</i> , <i>R.felis</i> , <i>R.rickettsii</i> , <i>R.conorii</i> , <i>R.australis</i> , <i>R.akari</i> , <i>R.sibirica</i> , <i>R.japonica</i> , <i>R.honei</i>	
				Orientia	<i>O.tsutsugamushi</i>	
			Ehrlichiaeceae	Ehrlichia	<i>E.chaffeensis</i> , <i>E.sennetsu</i> , <i>E.equilike</i> (<i>E.phagocytophila</i>)	
		Rhizobiales	Bartonellaceae	Bartonella	<i>B.quintana</i> , <i>B.henselae</i> , <i>B.bacilliformis</i> , <i>B.chlaridgeae</i> , <i>B.elizabethae</i>	
			Brucellaceae	Brucella	<i>B.melitensis</i> , <i>B.abortus</i> , <i>B.suis</i> u др.	
		Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	<i>B.mallei</i> , <i>B.pseudomallei</i> , <i>B.cepacia</i> u др.
				Alcaligenaceae	Alcaligenes	<i>A.faecales</i> u др.
				Bordetella	<i>B.pertussis</i> , <i>B.parapertussis</i> , <i>B.bronchiseptica</i> u др.	
	Neisseriales		Neisseriaceae	Neisseria	<i>N.gonorrhoeae</i> , <i>N.meningitidis</i> , <i>N.sicca</i> , <i>N.subflava</i> u др.	
				Eikenella	<i>E.corrodens</i>	
				Kingella	<i>K.kingae</i> u др.	
	Nitrozoomonadales		Spirillaceae	Spirillum	<i>S.minus</i> u др.	
	Thiotrichales		Francisellaceae	Francisella	<i>F.tularensis</i>	
	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella	<i>L.pneumophila</i> u др.	
			Coxiellaceae	Coxiella	<i>C.burnetii</i>	
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	<i>P.aeruginosa</i> u др.	
			Moraxellaceae	Moraxella	Подрод <i>Moraxella</i> (<i>M.lacunata</i> u др.); Подрод <i>Branhamella</i> (<i>B.catarrhalis</i> u др.)	
				Acinetobacter	<i>A.calcoaceticus</i> u др.	
		Vibrionales	Vibrionaceae	Vibrio	<i>V.cholerae</i> (биовары: <i>cholerae</i> , <i>eltor</i>), <i>V.parahaemolyticus</i> , <i>V.vulnificus</i> , <i>V.sputorum</i> u др.	
		Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	<i>A.hydrophilia</i>	
		Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	<i>E.cloacae</i> , <i>E.sakazakii</i> , <i>E.agglomerans</i> , <i>E.gergoviae</i> u др.	
				Calymmatobacterium	<i>C.granulomatis</i>	
				Citrobacter	<i>C.freundii</i> , <i>C.amalonicus</i> , <i>C.diversus</i> u др.	
				Edwardsiella	<i>E.tarda</i> u др.	
				Erwinia	<i>E.amylovora</i> u др.	
	Escherichia			<i>E.coli</i> , <i>E.fergusonii</i> , <i>E.germannii</i> , <i>E.vulneris</i> , <i>E.blattae</i>		
	Hafnia			<i>H.alvei</i>		
	Klebsiella			<i>K.pneumoniae</i> (подвиды: <i>ozaenae</i> , <i>rhinoscleromae</i> , <i>pneumoniae</i>), <i>K.oxytoca</i> , <i>K.planticola</i> , <i>K.terrigena</i>		
	Morganella			<i>M.morganii</i>		
	Plesiomonas			<i>P.shigelloides</i>		
	Proteus	<i>P.vulgaris</i> , <i>P.mirabilis</i> , u др.				
	Providencia	<i>P.alcalifaciens</i> u др.				

				<i>Salmonella</i>	2 вида (<i>S. enterica</i> , <i>S. bongori</i>). Вид <i>S. enterica</i> состоит из 6 подвидов (subsp.: <i>arizonae</i> , <i>diarizonae</i> , <i>enterica</i> , <i>houstenae</i> , <i>indica</i> , <i>salamae</i>). Подвиды включают более 2500 сероваров. Сокращенное название серовара пишется: <i>S. typhi</i> . Основные серовары: <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi A</i> , <i>S. schottmuelleri</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. choleraesuis</i> и др.
				<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> и др.
				<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>
				<i>Yersinia</i>	<i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i> и др.
		<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>H. influenzae</i> , <i>H. ducreyi</i> и др.
	<i>Epsilon-proteobacteria</i>	<i>Campylobacteriales</i>	<i>Campylobacteriaceae</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>C. jejuni</i> , <i>C. fetus</i> , <i>C. coli</i> и др.
<i>Helicobacteriaceae</i>			<i>Helicobacter</i>	<i>H. pylori</i> , <i>H. heilmannii</i> и др.	
			<i>Wolinella</i>	<i>W. succinogenes</i>	

ТИП (Phylum)	КЛАСС (Class)	ПОРЯДОК (Order)	СЕМЕЙСТВО (Family)	РОД (Genus)	ВИД (Species)	
<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>	<i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. histolyticum</i> , <i>C. septicum</i> , <i>C. tetani</i> , <i>C. difficile</i> и др.	
			<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. anaerobius</i> и др.	
			<i>Peptococcaceae</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>P. niger</i>	
				<i>Centipeda</i>	<i>C. periodontii</i>	
				<i>Mitsuokella</i>	<i>M. dentalis</i>	
			<i>Acidaminococcaceae</i>	<i>Selenomonas</i>	<i>S. sputigena</i>	
				<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i> и др.	
	<i>Mollicutes</i>	<i>Mycoplasmatales</i>	<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasma</i>	<i>M. pneumoniae</i> , <i>M. hominis</i> , <i>M. fermentans</i> , <i>M. salivarum</i> , <i>M. orale</i> , <i>M. arthritis</i> и др.	
				<i>Ureaplasma</i>	<i>U. urealiticum</i> и др.	
	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>		<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	<i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i> и др.
				<i>Listeriaceae</i>	<i>Listeria</i>	<i>L. monocytogenes</i> и др.
				<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i> и др.
		<i>Lactobacillales</i>		<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , и др.
				<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> и др.
				<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>
<i>Streptococcaceae</i>				<i>Streptococcus</i>	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. bovis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. milleri</i> и др.	
					<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> и др.
<i>Actinobacteria</i>				<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>
	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>M. lysodeiaticum</i> , <i>M. luteus</i> и др.			
	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>C. diphtheriae</i> , <i>C. ulcerans</i> , <i>C. urealyticum</i> , <i>C. xerosis</i> и др.			

			<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>M.tuberculosis</i> , <i>M.bovis</i> , <i>M.africanum</i> , <i>M.leprae</i> , <i>M.kansasii</i> , <i>M.avium</i> , <i>M.ulcerans</i> , <i>M.fortuitum</i> u òp.
			<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>	<i>N.asteroides</i> , <i>N.farcinica</i> u òp.
			<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>P.acnes</i> , <i>P.propionicus</i> u òp.
		<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.bifidum</i> u òp.
				<i>Gardnerella</i>	<i>G.vaginalis</i>
<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C.trachomatis</i>
				<i>Chlamydomphila</i>	<i>C.psittaci</i> , <i>C.pneumoniae</i>
				<i>Borrelia</i>	<i>B.recurrentis</i> , <i>B.burgdorferi</i> , <i>B.duttoni</i> , <i>B.persica</i> u òp.
<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetales</i>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Treponema</i>	<i>T.pallidum</i> (подвиды – <i>pallidum</i> , <i>endemicum</i> , <i>pertenue</i>), <i>T.carateum</i> , <i>T.denticola</i> , <i>T.minutum</i> , <i>T.refringens</i> , <i>T.scoliodontum</i> , <i>T.vincentii</i> u òp.
			<i>Leptospiraceae</i>	<i>Leptospira</i>	<i>L.inerrogans</i> , <i>L.biflexa</i>
			<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>B.fragilis</i> , <i>B.gingivalis</i> u òp.
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>P.gingivalis</i> , <i>P.endodontales</i> u òp.
			<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>P.melaninogenica</i> , <i>P.denticola</i> u òp.
	<i>Flavobacteria</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>F.meningosepticum</i> , <i>F.breve</i> u òp.
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>F.nucleatum</i> , <i>F.necroforum</i> , <i>F.vincentii</i> u òp.
				<i>Leptotrichia</i>	<i>L.buccalis</i> u òp.
				<i>Streptobacillus</i>	<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
ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Adenoviridae</i>	линейная, двунитчатая	-	70-90	Аденовирусы млекопитающих и птиц
<i>Herpesviridae</i>	линейная, двунитчатая	+	220	Вирусы простого герпеса, цитомегалии, ветряной оспы, инфекционного мононуклеоза
<i>Hepadnaviridae</i>	двунитчатая, кольцевая с односторонним участком	+	45-50	Вирус гепатита В
<i>Papovaviridae</i>	двунитчатая, кольцевая	-	45-55	Вирусы папилломы, полиомы
<i>Poxviridae</i>	двунитчатая с замкнутыми концами	+	130-250	Вирус осповакцины, вирус натуральной оспы
<i>Parvoviridae</i>	линейная, односторонняя	-	18-26	Аденоассоциированный вирус
РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Arenaviridae</i>	фрагментированная, односторонняя	+	50-300	Вирусы Ласса, Мачупо
<i>Bunyaviridae</i>	фрагментированная, односторонняя, кольцевая	+	90-100	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов
<i>Caliciviridae</i>	односторонняя	-	20-30	Вирус гепатита Е, калицивирусы человека
<i>Coronaviridae</i>	односторонняя +РНК	+	80-130	Коронавирусы человека
<i>Orthomyxoviridae</i>	односторонняя, фрагментированная -РНК	+	80-120	Вирусы гриппа
<i>Paramyxoviridae</i>	односторонняя, линейная -РНК	+	150-300	Вирусы парагриппа, кори, эпидпаротита, РС-вирус
<i>Picornaviridae</i>	односторонняя +РНК	-	20-30	Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЭКХО, гепатита А, Риновирусы
<i>Reoviridae</i>	двунитчатая РНК	-	60-80	Реовирусы, ротавирусы
<i>Retroviridae</i>	односторонняя РНК	+	80-100	Вирусы рака, лейкоза, саркомы, ВИЧ
<i>Togaviridae</i>	односторонняя +РНК	+	30-90	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов, краснухи
<i>Flaviviridae</i>	односторонняя +РНК	+	30-90	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, гепатита С, G
<i>Rhabdoviridae</i>	односторонняя -РНК	+	30-90	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита
<i>Filoviridae</i>	односторонняя +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 (Arenavirus)</i>	фрагментированная, односторонняя -РНК	+	сферическая, 50-300	12	Вирусы Ласса, Мачупо, Такарибе, ЛХМ (геморрагическая лихорадка Ласса, аргентинская геморрагическая лихорадка, лимфоцитарный хориоменингит)
<i>Bunyaviridae (Bunyavirus) (Phlebovirus) (Nairovirus) (Uukavirus) (Hantavirus)</i>	фрагментированная, односторонняя, кольцевая, -РНК	+	сферическая, 90-100	227 124 34 21 6 6	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов (калифорнийский энцефалит, лихорадка Буньямвера, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, москитная лихорадка, лихорадка Укумиени, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом)
<i>Togaviridae (Alfavirus)</i>	односторонняя +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 (Flavivirus)</i>	односторонняя +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 (Lyssavirus) (Vesiculiviridae)</i>	односторонняя -РНК, нефрагментированная	+	пулевидная, 130-380, 50-95	60 2 10	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита (бешенство, везикулярный стоматит)
<i>Reoviridae (Orbivirus)</i>	двунитчатая +РНК, фрагментированная	-	сферическая, 60-80	60	Вирус колорадской клещевой лихорадки
<i>Filoviridae</i>	односторонняя +РНК, нефрагментированная	+	плеоморфная, нитевидная, 200-4000	2	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

Приложение 3. Классификация грибов

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

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

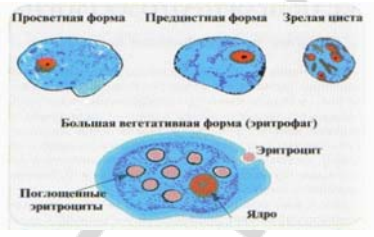
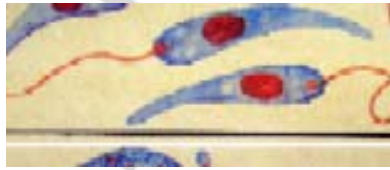
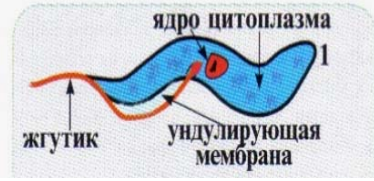

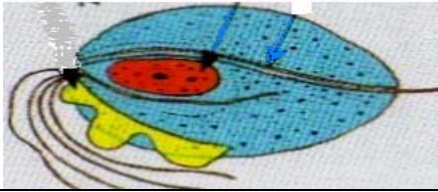
Клиническая классификация микозов


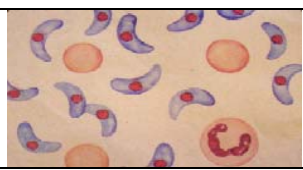
Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий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

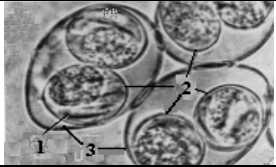
Приложение 4. Классификация простейших

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

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
ТИП – APICOMPLEXA класс – <i>Sporozoa</i> (споровики)	ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ: <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i>	Трехдневная малярия Трехдневная малярия (ovale) Четырехдневная малярия Тропическая малярия	
	ТОКСОПЛАЗМЫ: <i>Toxoplasma gondii</i>	Токсоплазмоз	
	САРКОЦИСТЫ: <i>Sarcocystis species</i>	Саркоцистоз	

	ИЗОСПОРЫ: <i>Isospora species</i>	Диарея	
	КРИПТОСПОРИДИИ: <i>Cryptosporidium species</i>	Диарея	
	ЦИКЛОСПОРЫ: <i>Cyclospora cauetanensis</i>	Диарея	
	БАБЕЗИИ: <i>Babesia species</i>	Бабезиоз	
ТИП – СИЛИОФОРА (реснитчатые) класс <i>Kinetofragminophorea</i>	БАЛАНТИДИИ: <i>Balantidium coli</i>	Балантидиазная дизентерия	
ТИП – MICROSPORA класс <i>Microsporea</i>	МИКРОСПОРИДИИ: <i>Encephalitozoon species</i> <i>Enterocytozoon species</i>	Микроспоридиоз	
Микробы спорного таксономического положения:	БЛАСТОЦИСТЫ: <i>Blastocystis hominis</i>	Бластоцистоз (диарея)	

Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2007 году

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

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

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

Среда Левина		Среда Эндо		Среда для дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и неферментирующих лактозу. Сульфит натрия и основной фуксин подавляют рост грам+ микроорганизмов. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид в свою очередь освобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний. У кишечных палочек эта реакция очень выражена и сопровождается кристаллизацией фуксина, что проявляется зеленоватым металлическим блеском колоний.
Ингредиенты		Ингредиенты		
Пептический перевар животной ткани	10,00	Пептический перевар животной ткани	10,00	
Калия гидрофосфат	2,00	Калия гидрофосфат	10,00	
Лактоза	10,00	Лактоза	10,00	
Эозин Y	0,40	Калия гидрофосфат	3,50	
Метиленовый синий	0,065	Натрия сульфит	2,50	
Агар-агар	15,00	Фуксин основной	0,50	
Конечное значение pH (при 25°C)	7,1 ± 0,2	Агар-агар	15,00	
Среда Ресселя		Среда Клиглера		Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Лучшие результаты получают на свежеприготовленной среде. Три основных типа реакций на среде Клиглера и ее аналогах: 1. Неферментирующие бактерии не способствуют «закислению» среды, цвет среды не изменен. 2. Лактозонегативные бактерии. В случае ферментации глюкозы вначале происходит «закисление» скошенной части и столбика, затем pH среды сдвигается в щелочную сторону под влиянием аминов, образованных в результате декарбоксилирования пептидов в присутствии кислорода (скошенная часть). Лактозоферментирующие бактерии. Постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот, образующихся при одновременной ферментации глюкозы и лактозы.
Среду используют для дифференциации грамотрицательных бактерий кишечной группы по их способности ферментировать глюкозу и лактозу с образованием газа или без него.		Среду используют для изучения у грамотрицательных бактерий способности ферментировать глюкозу и лактозу, а также продуцировать сероводород.		
Ингредиенты		Ингредиенты		Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Лучшие результаты получают на свежеприготовленной среде. Три основных типа реакций на среде Клиглера и ее аналогах: 1. Неферментирующие бактерии не способствуют «закислению» среды, цвет среды не изменен. 2. Лактозонегативные бактерии. В случае ферментации глюкозы вначале происходит «закисление» скошенной части и столбика, затем pH среды сдвигается в щелочную сторону под влиянием аминов, образованных в результате декарбоксилирования пептидов в присутствии кислорода (скошенная часть). Лактозоферментирующие бактерии. Постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот, образующихся при одновременной ферментации глюкозы и лактозы.
Пептический перевар животной ткани	2,50	Пептический перевар животной ткани	15,00	
Гидролизат казеина	7,50	Мясной экстракт	3,00	
Мясной экстракт	3,00	Лактоза	5,00	
Лактоза	10,00	Модифицированная среда Ресселя	10,00	
Глюкоза	1,00	Глюкоза	1,00	
Натрия хлорид	5,00	Метиленовый синий	0,20	
Феноловый красный	0,025	Натрия хлорид	5,00	
Агар-агар	15,00	Натрия тиосульфат	0,30	
Конечное значение pH (при 25°C)	7,3 ± 0,2	Феноловый красный	0,024	
Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета индикатора в скошенной части (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой.		Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета индикатора в скошенной части (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой.		
Среда Раппопорта (модифицированная)		Среда Плоскирева (модифицированная).		Эта дифференциально-селективная среда используется для выделения сальмонелл и шигелл из патологического материала, подозрительных пищевых материалов и т.п. Пептон и мясной экстракт обеспечивают присутствие необходимых питательных веществ. Лактоза является ферментируемым субстратом. Желчные кислоты, тиосульфат и бриллиантовый зеленый подавляют рост грам+ и колиформных бактерий. Некоторые кишечные микроорганизмы восстанавливают тиосульфат натрия до сульфита и газообразного сероводорода. Продукцию сероводорода определяют по образованию черного преципитата сульфида железа, такие микроорганизмы образуют на среде колонии с черным центром. Высокая селективность среды позволяет непосредственно засеивать их большим объемом инокулюма (фекалиями, ректальными тампонами и другим материалом, подозрительным на содержание патогенных кишечных бактерий).
Среды рекомендуют для селективного обогащения и выделения сальмонелл из пищевых продуктов и других объектов внешней среды.		Среды рекомендуют для селективного обогащения и выделения сальмонелл из пищевых продуктов и других объектов внешней среды. Гидролизат казеина стимулирует рост сальмонелл.		
Ингредиенты		Ингредиенты		
Гидролизат казеина	5,00	Протеозопептон	5,00	
Натрия хлорид	8,00	Мясной экстракт	5,00	
Калия дигидрофосфат	1,60	Лактоза	1,00	
Магния хлорид (x 6 H ₂ O)	40,00	Желчные кислоты, смесь	8,50	
Малахитовый зеленый	0,04	Натрия цитрат	8,50	
Конечное значение pH (при 25°C)	5,2 ± 0,2	Натрия тиосульфат	8,50	

Железа цитрат	1 , 0 0
Брилли- антовый зеленый	0 , 0 0 3 3
Ней- тральный красный	0 , 0 2 5
Агар- агар	1 3 , 5 0

Конечное зна-
чение рН 7,0 ±
0,2

При росте ферментирующих лактозу представителей нормальной кишечной микрофлоры образуются кислые продукты - колонии окрашиваются в красный цвет. Колонии не ферментирующих лактозу бактерий бесцветны, прозрачны с черным центром или без него. Рост сальмонелл не подавляется: они образуют бесцветные колонии с черным центром (продукция H₂S). Шигеллы растут в виде бесцветных колоний, но без черного центра, т.к. не продуцируют H₂S.

Оглавление

Введение. Список сокращений.....

Первый семестр

- Занятие № 1. Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски.....
- Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски.....
- Занятие № 3. Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм.....
- Занятие № 4. Экология микробов. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика.....
- Занятие № 5. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий.....
- Занятие № 6. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.....
- Занятие № 7. Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики.....
- Занятие № 8. Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.....
- Занятие № 9. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов».....
- Занятие № 10. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета.....
- Занятие № 11. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунный ответ организма.....
- Занятие № 12. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.....
- Занятие № 13. Аллергия. Основы клинической иммунологии. Оценка иммунного статуса.....
- Занятие № 14. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия».....
- Занятие № 15. Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.....
- Занятие № 16. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами и рабдовирусами.....
- Занятие № 17. Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции, герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта.....
- Занятие № 18. Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов.....

Второй семестр

- Занятие № 1 (19). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками.....
- Занятие № 2 (20). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стрептококками и нейссериями.....

- Занятие № 3 (21). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых энтеробактериями
- Занятие № 4 (22). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами и псевдомонадами.
Принципы диагностики пищевых отравлений
- Занятие № 5 (23). Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша.....
- Занятие № 6 (24). Методы микробиологической диагностики актиномикоза, туберкулеза
- Занятие № 7. (25) Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций.....
- Занятие № 8 (26). Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.....
- Занятие № 9 (27). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами
- Занятие № 10 (28). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами
- Занятие № 11 (29). Методы микробиологической диагностики микозов
- Занятие № 12 (30). Итоговое занятие по теме: «Частная микробиология».....
- Занятие № 13 (31). Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры полости рта
- Занятие № 14 (32). Методы изучения факторов иммунитета полости рта.....
- Занятие № 15 (33). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта. Этиология и патогенез кариеса.....
- Занятие № 16 (34). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта (продолжение).....
- Занятие № 17 (35). Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая гнойно-септических инфекций бронхо-лёгочной системы, уросистемы. Внутрибольничные инфекции
- Занятие № 18 (36). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики стоматогенных аспирационных бронхо-легочных заболеваний. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике
- Занятие № 19 (37). Итоговое занятие по теме «Стоматологическая микробиология и вирусология».....
- Список литературы
- Приложение 1. Классификация микробов (Прокариоты) по Берджи, 2001 (сокращенная) Домен (Domain) – *BACTERIA*
- Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (ЦАРСТВО *VIRA*).
Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью
- Приложение 3. Классификация грибов. Клиническая классификация микозов
- Приложение 4. Классификация простейших
- Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2007 году.....

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

Репозиторий БГМУ

Учебное издание

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

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета

Издание второе, дополненное

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

Подписано в печать 02.05.08. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка». Печать
офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 13,95. Уч.-изд. л. 7,09. Тираж 210 экз. Заказ 290.

Издатель и полиграфическое исполнение – Белорусский государственный медицинский
университет.

ЛИ № 02330/0133420 от 14.10.2004; ЛП № 02330/0131503 от 27.08.2004.
220030, г. Минск, Ленинградская, 6.