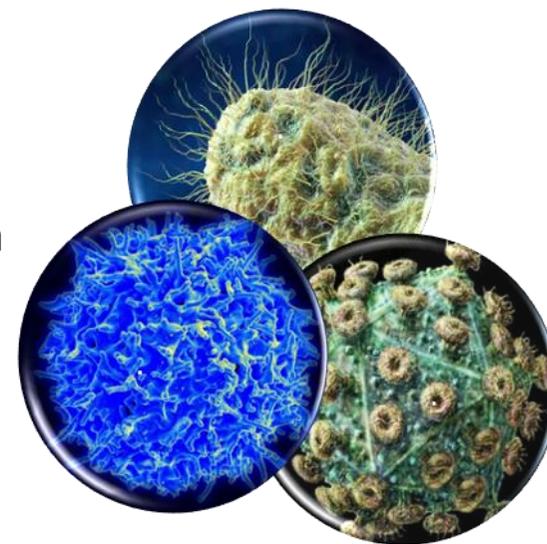


МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум

Студента _____ группы медико-профилактического факультета



Минск БГМУ 2016

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

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум

2-е издание, переработанное



МИНСК БГМУ 2016

УДК 616-093/-098(076.5) (075.8)

ББК 52.64 я73

М42

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 18.11.2015 г., протокол № 3

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–37); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (зан. 1–10, 19–28, 30, 37); канд. мед. наук, доц. В. В. Кочубинский (зан. 1–37); канд. мед. наук, доц. Д. А. Черношей (зан. 12–17, 30–36); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (зан. 1–6, 19–23, 27–28, 37)

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

Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : практикум / Т. А. Канашкова [и др.]. – 2-е изд., перераб. – Минск : БГМУ, М42 2016. – 138 с.

ISBN 978-985-567-383-6.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология». Первое издание вышло в 2015 г.

Предназначен для студентов 2-го и 3-го курсов медико-профилактического факультета.

УДК 616-093/-098(076.5) (075.8)

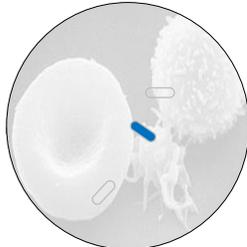
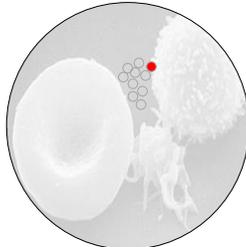
ББК 52.64 я73

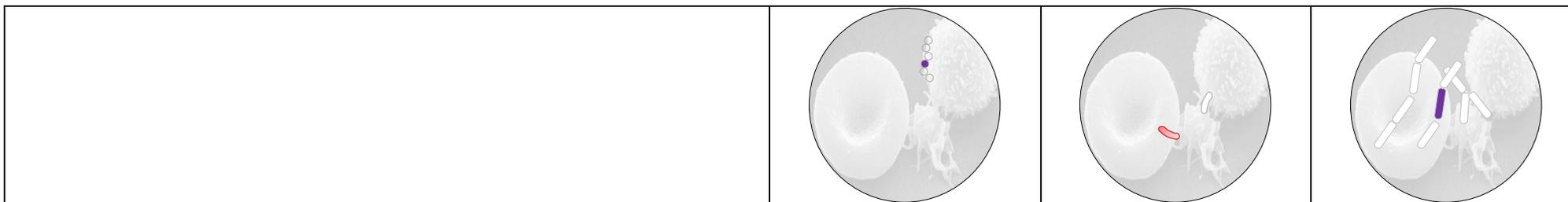
ISBN 978-985-567-383-6

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2016

Занятие № 1. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий.

Простые методы окраски

<p>Перечень изучаемых вопросов: Микробиология, основные этапы развития. История кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ, основные направления работы.</p> <p>Устройство микробиологической лаборатории, режим работы в ней. Правила работы с заразным материалом и культурами микроорганизмов. Правила работы со спиртовками, электрическими и газовыми приборами.</p> <p>СП 17-69 РБ-98 «Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний».</p> <p>Мир микробов. Принципы систематики микроорганизмов, классификация, номенклатура, таксономические группы. Эволюция микроорганизмов.</p> <p>Основные формы бактерий (шаровидные, палочковидные, извитые, нитевидные), характеристика.</p> <p>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> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
		Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Лабораторная работа - выполняется индивидуально.						
Задание		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>1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>2 Препарат _____ Окраска _____</p> 			
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>3. <i>Streptococcus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.</p> <p>4. <i>Vibrio spp.</i>, чистая культура, окраска водным фуксином.</p> <p>5. <i>Bacillus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.</p>		<p>3 Препарат _____ Окраска _____</p>	<p>4 Препарат _____ Окраска _____</p>	<p>5 Препарат _____ Окраска _____</p>		



Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

- ПРАВИЛА**
- работы в микробиологической лаборатории для студентов, проходящих обучение на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии**
- Студенты, находящиеся в лаборатории, должны быть в халатах и шапочках.
 - Не допускаются излишние разговоры и хождения.
 - Каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом.
 - В бактериологической лаборатории запрещается прием пищи и курение.
 - Во время занятий запрещается пользование мобильными телефонами.
 - При работе с микробными культурами и другим бактериологическим материалом ни в коем случае не прикасаться к ним руками; необходимо пользоваться инструментами (пинцетами, иглами, крючками, петлями). Весь инвентарь, находившийся в контакте с данным материалом, подлежит стерилизации или уничтожению.
 - Во время выполнения практической работы необходимо использовать дополнительные средства защиты кожных и слизистых покровов, органов дыхания и зрения.
 - Обязательным является использование защитных перчаток и очков при работе с клиническим материалом и препаратами на основе биологических жидкостей.
 - При работе с жидкостями рекомендуется пользоваться дозирующими приспособлениями. Пипетка должна иметь фильтр из вискозы.
 - Переливание инфицированных жидкостей из сосуда в сосуд производят над лотком, наполненным дезинфицирующим раствором.
 - Всю работу, связанную с посевами, пересевами производят вблизи пламени спиртовок (горелок), фламбуруя края пробирок, петли, шпатели и пр.
 - Пробирки, колбы, флаконы и пр., в которые в процессе работы помещается материал, должны быть предварительно маркированы с указанием характера материала, названия, номера культуры, даты.

Микроскопический метод исследования – совокупность способов изучения морфологических и тинкториальных (способность окрашиваться) свойств микроорганизмов в исследуемом материале (лабораторная культура, патологический материал, пробы из внешней среды) с помощью микроскопии.

Основная цель – установление этиологии инфекционного заболевания. 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:

- Забор материала от пациента (гной, мокрота, кровь, моча, испражнения, промывные воды бронхов и желудка, ликвор, содержимое полостей носа, вагины, биопсийный, секционный материалы, соскоб уретры, цервикального канала и др.) или с объектов внешней среды.
- Транспортировка материала, хранение, подготовка к исследованию.
- Приготовление микропрепарата.
- Микроскопия.
- Заключение.

Приготовление фиксированного мазка:

- Собственно приготовление мазка
- Высушивание
- Фиксирование
- Окрашивание

При микроскопии мазка изучается:

- форма микробной клетки,
- размеры микробной клетки,
- взаимное расположение микробных клеток,
- тинкториальные свойства;
- специфические морфологические структуры (капсула, споры, включения).

13. При аварийных ситуациях работу с биологическим материалом немедленно прекращают, ставят в известность преподавателя или лаборантов. Все открытые части тела обрабатывают дезинфицирующим раствором или 70% спиртом; при попадании инфекционного материала на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают: глаза – 1% раствором борной кислоты, несколькими каплями 1% раствора азотнокислого серебра или струей воды; в нос закапывают, а рот и горло прополаскивают 0,05% раствором борной кислоты. Проводится обеззараживание места аварии дезинфицирующим раствором.
14. Предметы, посуду, материал, инфицированные во время работы, собирают в баки или ведра, закрывают и в тот же день стерилизуют.
15. Культуры микроорганизмов, если это необходимо, хранят в агаровых столбиках под маслом в закрытых пробирках с этикетками.
16. После работы рабочее место должно быть приведено в полный порядок.
17. Ежедневная уборка помещения производится влажным способом с применением дезинфицирующих средств, кварцевание проводится по графику.

Оценка метода: метод простой, доступный, быстрый, экономичный, но мало чувствительный (определяется около 10^5 и более бактерий в мл) и малоспецифичный из-за сходства морфологии микроорганизмов разных видов, небезопасный (работа с живыми микроорганизмами).

С инструкцией ознакомлен ФИО _____
 Подпись _____ Дата _____

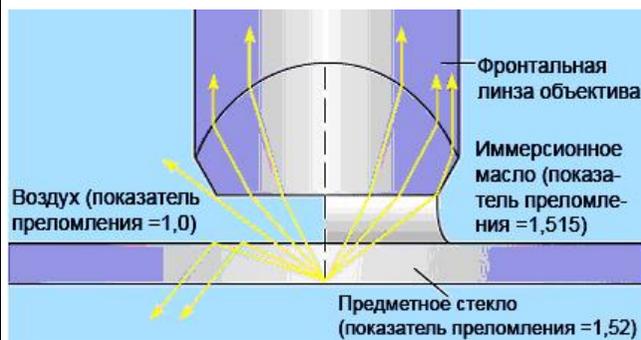


Схема хода лучей в сухой и иммерсионной системах

Рассчитать разрешающую способность светового микроскопа при суховоздушной и иммерсионной системах.

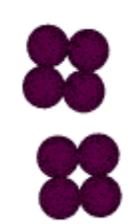
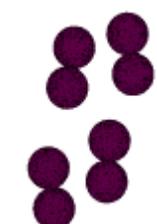
Разрешающая способность = $0,61 \times \lambda / n \times \sin \alpha$, где:
 λ (длина световой волны) = 0,55 мкм;
 n - показатель среды преломления между препаратом и фронтальной линзой объектива;
 α – половина апертурного угла.

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

Результат:
 Разрешающая способность иммерсионного микро-

 <p>Устройство светового микроскопа</p>		скопа _____мкм Разрешающая способность суховоздушного микро- скопа _____мкм
--	--	---

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

Самостоятельная работа– выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.

3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

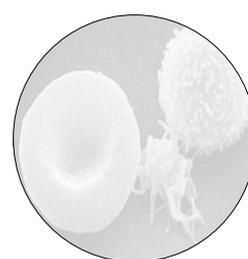
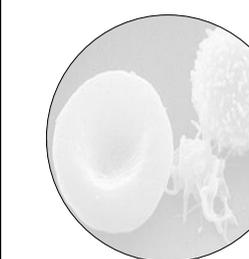
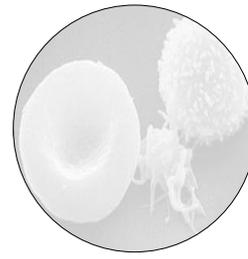
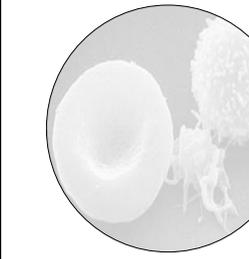
СП 17-69 РБ-98 «**Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29 апреля 1998 г. № 182.

Подпись преподавателя _____

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

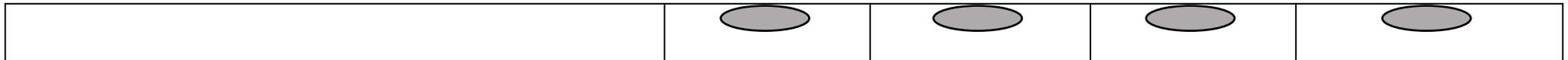
<p>Перечень изучаемых вопросов: Отличия прокариотов от эукариотов. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования. Клеточная стенка бактерий: структура, функции, методы выявления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Техника и механизм окраски по Граму. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Причины образования, значение. Структура и функции капсулы, жгутиков, фимбрий. Методы выявления. Выявление капсулы методом Бурри-Гинса. Цитоплазматическая мембрана, строение, функции. Цитоплазматические структуры бактериальной клетки (нуклеоид, мезосомы, рибосомы, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру. Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену. Покоящиеся формы микроорганизмов. Споры бактерий, значение, стадии спорообразования. Методы выявления спор, окрашивание по методу Ожешко. Санитарные правила 17-129 РБ 2000 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами».</p>	<p>Источники: - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22]</p>				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты			
<p>1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>2. Приготовить препарат из капсульной культуры, окрасить по Бурри-Гинсу, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>3. Приготовить препарат из смеси кислотоустойчивых и некислотоустойчивых бактерий, окрасить по Цилю-Нильсену, микроскопировать, зарисовать.</p>	<p>1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>2 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>3 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4 Препарат _____ Окраска _____</p> 
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>4. Сферопласты клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>)</p> <p>5. Клеточная стенка бактерий. Окраска таннин-фуксин.</p> <p>6. Зерна волютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>. Окраска по Леффлеру.</p> <p>7. Зерна волютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>. Окраска по Нейссеру</p> <p>8. Споры <i>Bacillus anthracis</i>. Окраска по Ожешко.</p>	<p>5 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>6 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>7 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>8 Препарат _____ Окраска _____</p> 

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:	Монотрих	Лофотрих	Амфитрих	Перитрих
--	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------



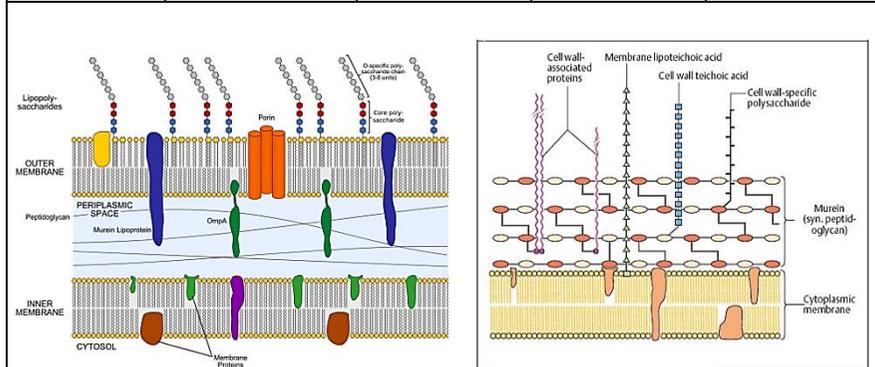
В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окрашивания по методу Грама? *Раскройте таблицу*

Бактерии	После окрашивания генцианвиолетом	После обработки р-ром Люголя	После обработки 96% этанолом	После окрашивания фуксином
Грам+				
Грам-				

Окраска по Граму
(дифференциация бактерий по строению 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.



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

Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

Компоненты клеточной стенки	Грамположительные бактерии	Грамотрицательные бактерии
Пептидогликан		
Тейхоевые кислоты		
Липополисахариды		
Полисахариды		
Белки		
Липиды		

Поверхностные образования	Строение	Функции	Методы выявления
Капсула			

Окраска по Бурри-Гинсу
(выявление капсул)

- Смешивают каплю взвеси микроба с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем

Клеточная стенка				ем готовят препарат так же, как и тонкий мазок крови; <ul style="list-style-type: none"> • Препарат высушивают и фиксируют в пламени; • На остывшее стекло наливают водный фуксин на 3-5 минут, промывают водой, высушивают на воздухе, наносят иммерсионное масло, микроскопируют. Бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются на черно-розовом фоне.
Жгутики				
Фимбрии				

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

Бактерии	В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окраски по методу Циля-Нильсена? <i>Раскройте таблицу.</i>			В какие цвета окрашиваются спора и вегетативная часть бактерии по этапам проведения окраски по методу Ожешко? <i>Раскройте таблицу</i>				
	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим		После обработки соляной кислотой	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим
Кислотоустойчивые				Бактерия со спорой и споры				
Кислотонеустойчивые								

Окраска по Цилю-Нильсену (выявление кислотоустойчивости)

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

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

Окраска по Ожешко (выявление спор)

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

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

Споры бактерий можно обнаружить в клетках с помощью фазово-контрастной микроскопии. Примеры спорообразующих бактерий: *Bacillus anthracis*, *Clostridium spp.*

Окраска по Леффлеру (выявление зерен волютина)

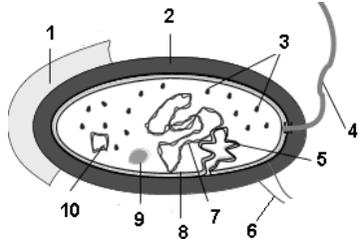
1. На фиксированный мазок наносят метиленовый синий щелочной р-р – 5 мин. промывают водой;
2. Высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

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

Окраска по Нейссеру (выявление 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.

Структура, функции и методы выявления цитоплазматических образований бактериальной клетки			 <p>Впишите названия структур клетки</p>	1 -
образования	строение	функции		2 -
ЦПМ				3 -
Нуклеоид				4 -
Плазмиды				5 -
Мезосомы				6 -
Рибосомы				7 -
Включения				8 -
			9 -	
			10 -	

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

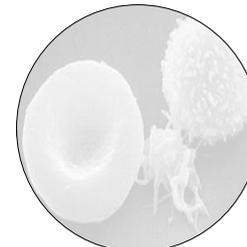
1. Ознакомиться с нормативным документом.
 2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.
 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.
- СП 17-129 РБ 2000 «**Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 27 июля 2000 г. № 40.2.

Подпись преподавателя _____

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

<p>Перечень изучаемых вопросов: Систематическое положение и морфология спирохет, методы изучения морфологии. Окраска по Романовскому-Гимзе. Систематическое положение и морфология актиномицетов. Систематическое положение и морфология риккетсий, методы изучения. Систематическое положение и морфология хламидий, формы существования, методы изучения. Систематическое положение и морфология микоплазм, методы изучения.</p> <p>Методы исследования активной подвижности микробов. Приготовление препаратов «раздавленная» и «висячая капля». Темнопольная микроскопия. Устройство и ход лучей в темнопольном микроскопе. Фазово-контрастная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты			
<p>1. Приготовить препарат из взвеси <i>Rickettsia spp.</i> окрасить водным р-ром фуксина, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>2. Приготовить препарат «раздавленная капля» и «висячая капля» из взвеси подвижных бактерий, микроскопировать в нативном состоянии.</p> <p>3. Приготовить препарат из взвеси <i>Borrellia spp.</i> окрасить по Романовскому-Гимзе, микроскопировать, зарисовать.</p>	<p>1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>3 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>5 Препарат _____ Окраска _____</p> 

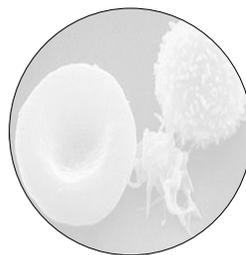
Зарисовать демонстрационные препараты:

4. *Treponema denticola* в зубном налёте, окраска по Граму.
5. *Leptospira spp.* в темном поле.
6. *Borrelia recurrentis* в крови пациента возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе.
7. Цитоплазматические включения *Chlamydia spp.*, окраска по Романовскому-Гимзе.
8. *Actinomyces spp.*, чистая культура, окраска по Граму.
9. *Escherichia coli* в люминесцентном микроскопе, окраска акридиновым оранжевым.

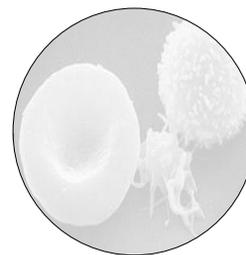
6 Препарат _____
Окраска _____



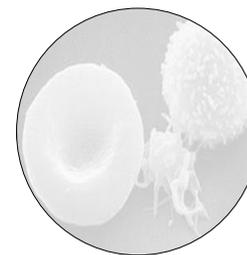
7 Препарат _____
Окраска _____



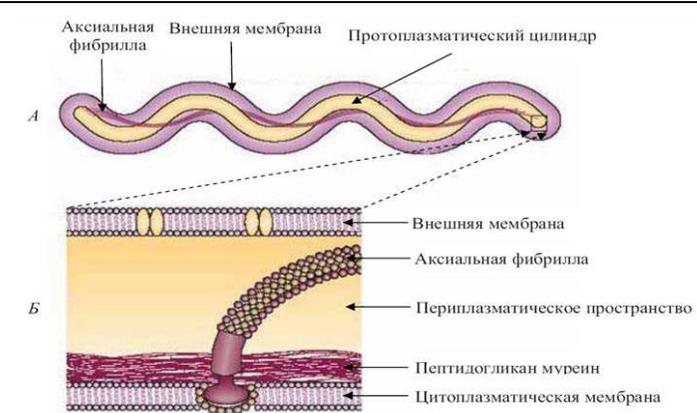
8 Препарат _____
Окраска _____



9 Препарат _____
Окраска _____



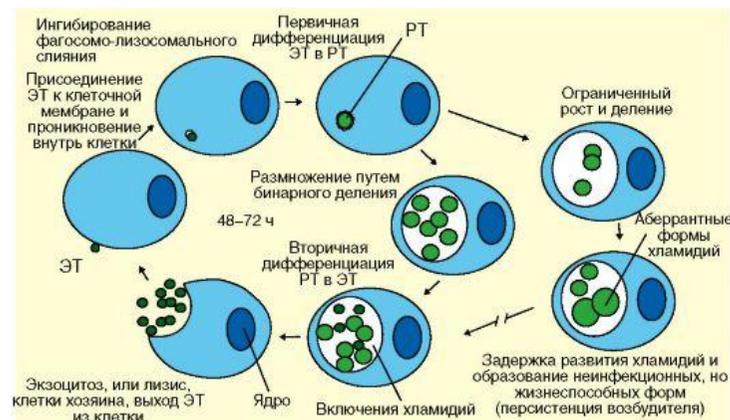
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию



Клетка спирохеты в продольном разрезе.

На рис. А изображена клетка, содержащая по одной аксиальной фибрилле у каждого конца; на рис. Б — увеличение, где показан участок прикрепления аксиальных фибрилл.

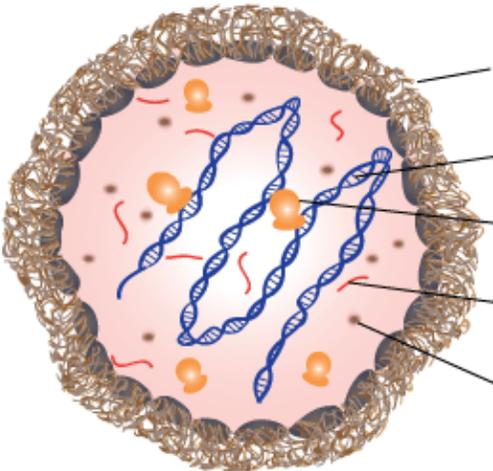
Репликативный цикл хламидий



Дифференциация спирохет (заполните таблицу)

Признак	<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
---------	-----------------------	----------------------	------------------------

Структура клетки микоплазмы

Число завитков				 <p>Пронумеруйте обозначенные стрелками структуры:</p> <p>1 – ДНК 2 – РНК 3 – рибосомы 4 – липопотеины ЦПМ 5 – метаболиты</p> <p>Подпись преподавателя _____</p>
Характер завитков				
Основные типы движений				
Окрашивание по Романовскому-Гимзе				
Окрашивание по Граму				
<p>Окрашка по Романовскому-Гимзе (метод окраски простейших, бактерий, клеточных структур и тканей различных видов)</p> <p>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. Бактерии приобретают фиолетово-красный оттенок, цитоплазма клеток - голубой цвет, ядра - красный. Простейшие - цитоплазма становится голубого цвета, а ядра — красно-фиолетового цвета.</p>				

Занятие № 4. Противомикробные мероприятия. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика

<p>Перечень изучаемых вопросов: Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Термические, механические, химические и др. методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы. Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики. Методы контроля эффективности стерилизации, дезинфекции, антисептики. Понятие о противомикробном режиме в лечебно-профилактических учреждениях. Санитарные нормы и правила «Требования к порядку проведения дезинфекционных, дезинсекционных и дератизационных мероприятий».</p>	Источники:				
	<p>- Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [5], [8], [13], [22]</p>				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Лабораторная работа – выполняется индивидуально.					
Задание	Результаты				
1. Опыт по антисептической обработке кожи рук.	<p>Опыт по антисептике:</p> <ol style="list-style-type: none"> Отпечаток кожи без обработки (контроль); Мытье водой с мылом – отпечаток (опыт 1); Обработка антисептиком (1% раствор йодопирона) – 2 мин; Обработка нейтрализатором (1% раствор тиосульфата натрия) – 2 мин; 				

5. Отпечаток (опыт 2).

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

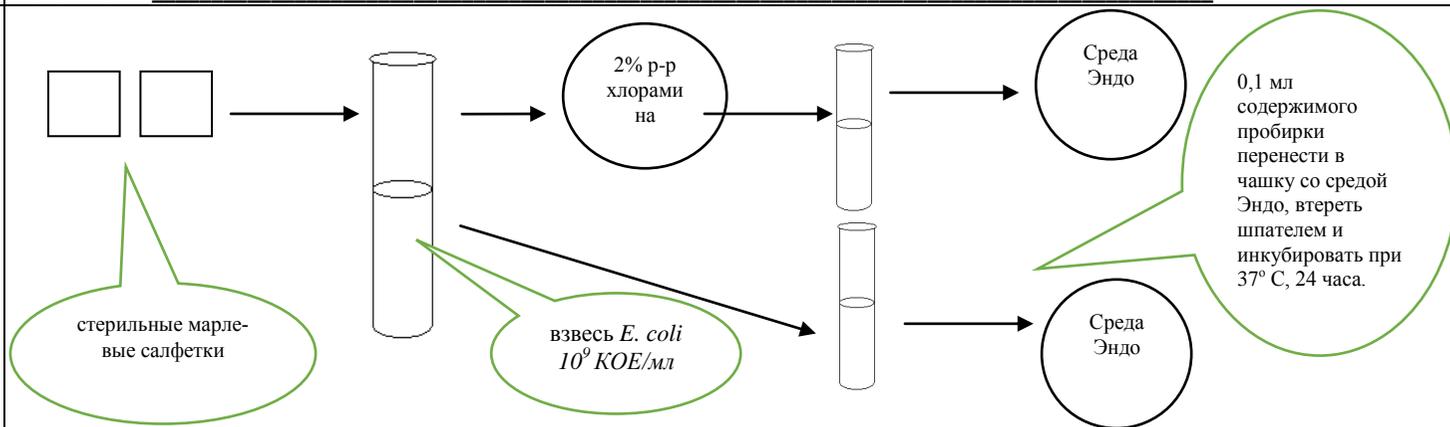
Учет опыта по антисептике:

1. Количество колоний бактерий на контрольном отпечатке _____;
2. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 1» _____;
3. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 2» _____.

Заключение: _____

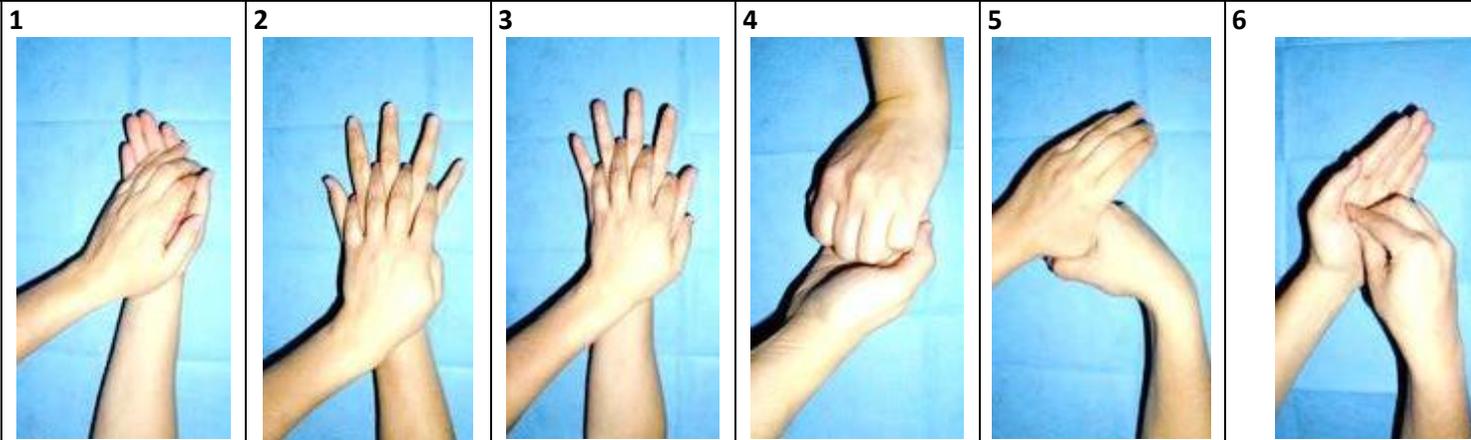
2. Опыт по дезинфекции.

Две стерильные марлевые салфетки поместить в пробирку со взвесью *E. coli* 10^9 КОЕ/мл. Опытную салфетку выдержать в 2% р-ре хлорамина в чашке Петри, экспозиция 1-5 мин, затем поместить в пробирку с 1% тиосульфатом Na для нейтрализации действия дезинфектанта на 2 минуты, затем 0,1 мл содержимого пробирки перенести в чашку со средой Эндо, втереть шпателем и инкубировать при 37° С, 24 часа. Контрольную - поместить в пробирку с 1% тиосульфатом Na для нейтрализации действия дезинфектанта на 2 минуты, затем 0,1 мл содержимого пробирки перенести в чашку со средой Эндо, втереть шпателем и инкубировать при 37° С, 24 часа.



Заключение: _____

3. Демонстрация аппаратуры для стерилизации, растворы для дезинфекции, антисептики.



<p>Противомикробные мероприятия – совокупность методов уничтожения, подавления жизнедеятельности и ограничения распространения во внешней среде потенциально патогенных для человека микроорганизмов с целью предупреждения развития и лечения инфекционных болезней. Совокупность строго регламентированных и обязательных для выполнения противомикробных мероприятий в конкретных лечебных, детских или иных учреждениях и производствах носит название противомикробный режим.</p> <p>Стерилизация – совокупность физических или химических способов полного освобождения объектов внешней среды от вегетативных и покоящихся форм патогенных, условно-патогенных и непатогенных микроорганизмов.</p> <p>Дезинфекция – совокупность способов полного, частичного или селективного уничтожения потенциально патогенных для человека микроорганизмов на объектах внешней среды с целью предупреждения передачи возбудителей болезней от больных и микробоносителей здоровым людям.</p> <p>Антисептика – совокупность способов уничтожения или подавления жизнедеятельности потенциально опасных для здоровья человека организмов на интактных или поврежденных коже, слизистых оболочках и в полостях с целью профилактики (профилактическая антисептика) и лечения (терапевтическая антисептика) инфекционных процессов.</p> <p>Асептика – совокупность противомикробных мероприятий, направленных на предупреждение развития инфекционного заболевания во время медицинских вмешательств или нарушений технологического процесса при микробиологических исследованиях и производстве различных материалов.</p>	Впишите в таблицу 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		
АНТИСЕПТИКА РУК ПО EN 1500 (см. рисунки вверху)		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Тереть ладонью о ладонь. 2.левой ладонью по тыльной стороне правой кисти и наоборот. 3. Тереть ладони со скрещенными растопыренными пальцами. 4. Тыльной стороной согнутых пальцев по ладони другой руки. 5. Поочередно круговыми движениями тереть большие пальцы рук. 6. Поочередно разнонаправленными круговыми движениями тереть ладони кончиками пальцев противоположной руки. 		
Самостоятельная работа– выполняется индивидуально.		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Ознакомиться с нормативным документом 2. Выписать основные положения документа в части, относящейся к изучаемому предмету. 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием. <p>СНиП «Требования к порядку проведения дезинфекционных, дезинсекционных и дератизационных мероприятий», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21 марта 2013 г. № 24.</p>		

Санитарные правила и нормы № 21-112-99 «**Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 6 января 1999 г. № 2, с изменениями, утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 4 февраля 2009 г. № 12.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 5. Бактериологический метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий

<p>Перечень изучаемых вопросов: Особенности обмена веществ у микроорганизмов. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и микроэлементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ через мембрану. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по типу дыхания.</p> <p>Методы культивирования бактерий. Питательные среды, общая характеристика и классификация. Принципы приготовления. Требования, предъявляемые к питательным средам. Условия выращивания микробов. Термостат.</p> <p>Бактериологический метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы и схема выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.</p> <p>Методы и аппаратура для создания анаэробии.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [5], [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Лабораторная работа – выполняется одна на 2-х студентов.					
Задание	Результаты				

1. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):

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

2. Учет опыта по антисептике (см. занятие 4).

3. Учет опыта по дезинфекции (см. предыдущее занятие).

4. Освоение техники посева на чашечные питательные среды.

5. Ознакомление с демонстрационными материалами:

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

II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры)

Плотная среда для получения изолированных колоний

Инкубация 24 часа, 37°C

Среда для накопления чистой культуры

Признак	Колония 1	Колония 2
Форма		
Размер		
Поверхность		
Край		
Цвет		
Консистенция		
Прозрачность		

Морфология культуры колонии 1

Морфология культуры колонии 2

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

Бактериологический метод исследования - совокупность способов, направленных на выделение и идентификацию чистых культур бактерий с помощью культивирования на питательных средах.

Первый этап включает:

- **забор, транспортировку, хранение, предварительную обработку материала;**
- **при необходимости посев в среду обогащения;**
- **микроскопию исследуемого материала;**
- **посев на питательные среды с целью получения изолированных колоний.** Производят посев материала методом механического разобщения (петлей или шпателем) на чашку с

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

- посев материала на чашки Петри петлей;
- посев материала на чашки Петри шпателем;
- 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 скосу и располагаются в верхней ча-

<p>дифференциально-диагностической или селективной средой с целью получения изолированных колоний.</p> <p>После посева чашку переворачивают дном вверх (чтобы избежать размазывания колоний каплями конденсационной жидкости), подписывают и помещают в термостат при температуре 37°C на 18–24 ч.</p> <p>Второй этап включает:</p> <ul style="list-style-type: none"> - изучение культуральных свойств микроорганизмов; - микроскопию - определение морфологии и чистоты культуры; - накопление чистой культуры. Для накопления чистой культуры изолированные колонии всех морфотипов пересевают в отдельные пробирки со скошенным агаром или какой-либо другой питательной средой и инкубируют в термостате при +37 °С. <p>Третий этап включает:</p> <ul style="list-style-type: none"> - учет роста на среде накопления, оценка чистоты культуры в мазке по Граму. - окончательная идентификация чистой культуры и определение спектра чувствительности выделенной культуры к антибиотикам. <p>Четвертый этап включает:</p> <ul style="list-style-type: none"> - учет и анализ результатов. Учитывают результаты изучения биохимических, серологических, генетических и др. характеристик и сравнивают их со свойствами эталонных (типовых) штаммов различных видов микроорганизмов. Относят идентифицируемый микроорганизм к тому виду, с которым он проявляет наибольшее сходство. <i>Учитывают спектр чувствительности к противомикробным препаратам.</i> - выдача заключения. <p>Оценка метода:</p> <p><i>достоинства:</i> относительно высокая чувствительность и специфичность, возможность определить количество микробов в исследуемом материале, а также чувствительность к антибиотикам; <i>недостатки:</i> относительная длительность, метод дорогостоящий, небезопасный.</p>	<p>сти агара. При 2-3-кратном пассировании этих колоний в конденсационную жидкость скошенного агара удается получить чистую культуру подвижного микроба (например, протей);</p> <ul style="list-style-type: none"> - разобшение 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. <p>2. Метод заражения чувствительных лабораторных животных (биологический) основан на избирательной чувствительности организма животного к микробам различных видов, что выражается в быстрой скорости размножения определенного вида при попадании его в кровь и внутренние органы, откуда его и выделяют. В то же время другие виды микробов погибают под действием защитных факторов организма. Таким образом выделяют, например, чистую культуру пневмококков из организма белой мыши, возбудителя туляремии – из организма морской свинки.</p> <p>3. Методы, основанные на избирательной чувствительности микроорганизмов к воздействию внешних факторов:</p> <ul style="list-style-type: none"> 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.
---	--

<p>Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.</p>			
<p>БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ (продумать и зарисовать схему)</p>			

--	--	--	--

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 вакцин, иммунных сывороток и антибиотиков;

Б) По назначению:

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

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

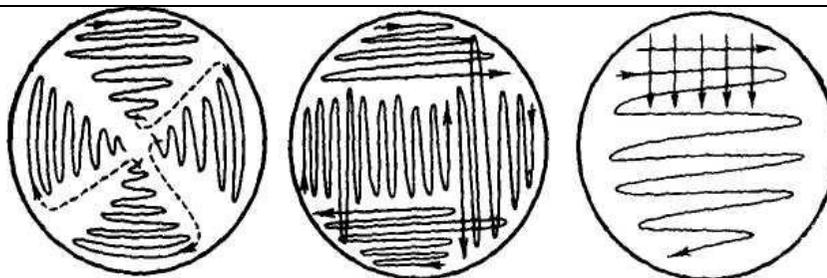
В) По консистенции:

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

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.

Различные варианты техники посева петлей на чашки Петри для механического разобщения микроорганизмов – отработать на практике навык посева.



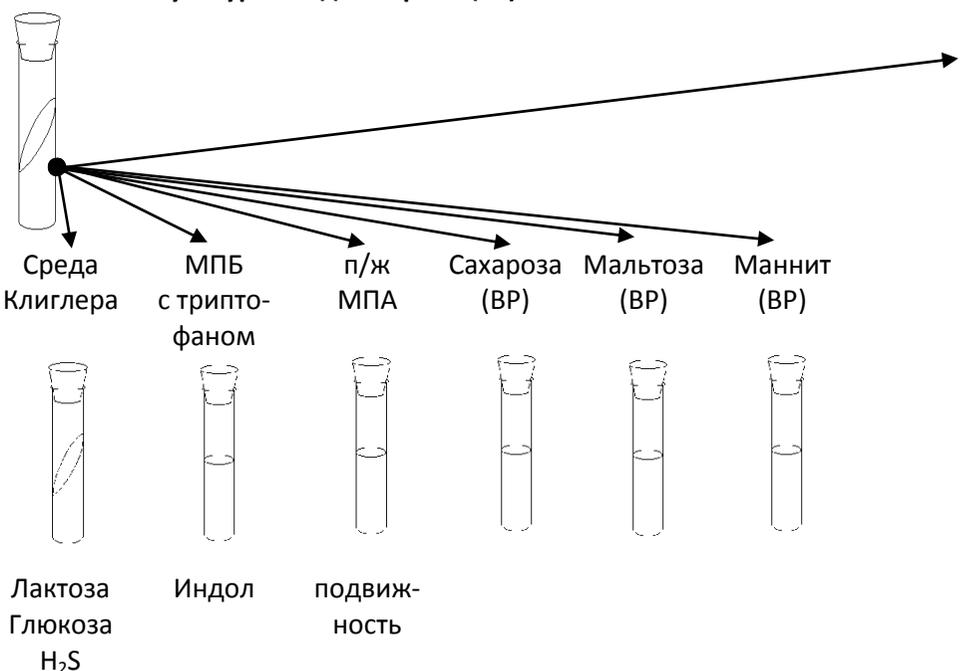
Подпись преподавателя _____

Занятие № 6. 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>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	<p>Опрос</p>	<p>Работа</p>	<p>Тест</p>	<p>Самостоятельная работа</p>	<p>Итог</p>

- в) липолитические (липаза, лецитиназа);
 - г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза);
 - д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.
- Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.

Лабораторная работа – выполняется одна на 2-х студентов

Задание	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 МПА в мазке по Граму, — осуществить посев на среду Клигlera, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность. <p>2. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - различные виды питательных сред; - среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие; - гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность; - тест-системы для идентификации бактерий. 	<p>III этап бактериологического исследования (накопление чистой культуры и идентификация)</p> 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОБОВ	Цвета некоторых индикаторов pH, <i>закрасьте в соответствии с цветом</i>			
	Индикатор	цвет индикатора при pH		
Этот метод предусматривает изучение ферментативной деградации различных субстратов (углеводов, аминокислот и белков, мочевины, перекиси водорода и др.) с образованием промежуточных и конечных продуктов.		кислая	нейтральная	щелочная
	Андрее	красный	желтый	желтый

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 и аминокислоты.

Липазы – ферменты разложения липидов и липоидов.

Ферменты-токсины:

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

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

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

Оксидоредуктазы:

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

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

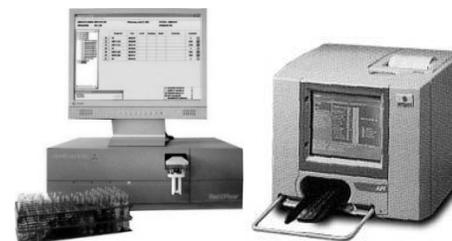
Определение дегидраз. О наличии дегидраз судят по редуцирующей способности микроба, т.е. способности восстанавливать (обесцвечивать) некоторые органические красители (например, 1% водный раствор метиленовой синьки).

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

Бромтимоловый синий	желтый	зеленый	синий
ВР	синий	розовый	малиновый
Феноловый красный	желтый	красный	малиновый



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



Автоматические микробиологические анализаторы

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ

Критерии вида

морфологический	культуральный	биохимический	серологический	биологический	генетический	экологический
<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"> • ферменты • профиль жирных кислот <p>см. таблицу ниже</p>	<ul style="list-style-type: none"> • определение антигенной структуры (взаимодействие со специфическими сыворотками) • определение видо- и типоспецифических антигенов 	<ul style="list-style-type: none"> • вирулентность для животных, • токсигенность, • чувствительность к бактериофагам, • чувствительность к антибиотикам 	<ul style="list-style-type: none"> • определение Г+Ц в ДНК, • реакция гибридизации (ДНК-зонды), • ПЦР и др. 	<ul style="list-style-type: none"> • естественное место обитания вида

Ферменты*

протеолитические	сахаролитические	липолитические	Окислительно-восстановительные	Ферменты-токсины
<ul style="list-style-type: none"> • протеазы, • протеиназы, • аминоксипептидазы, • карбоксипептидазы, • декарбоксилазы, 	<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,

<ul style="list-style-type: none">• триптофаназы,• десульфуразы,• уреазы				<ul style="list-style-type: none">• РНК-азы
--	--	--	--	---

* - только для целей идентификации.

Подпись преподавателя _____

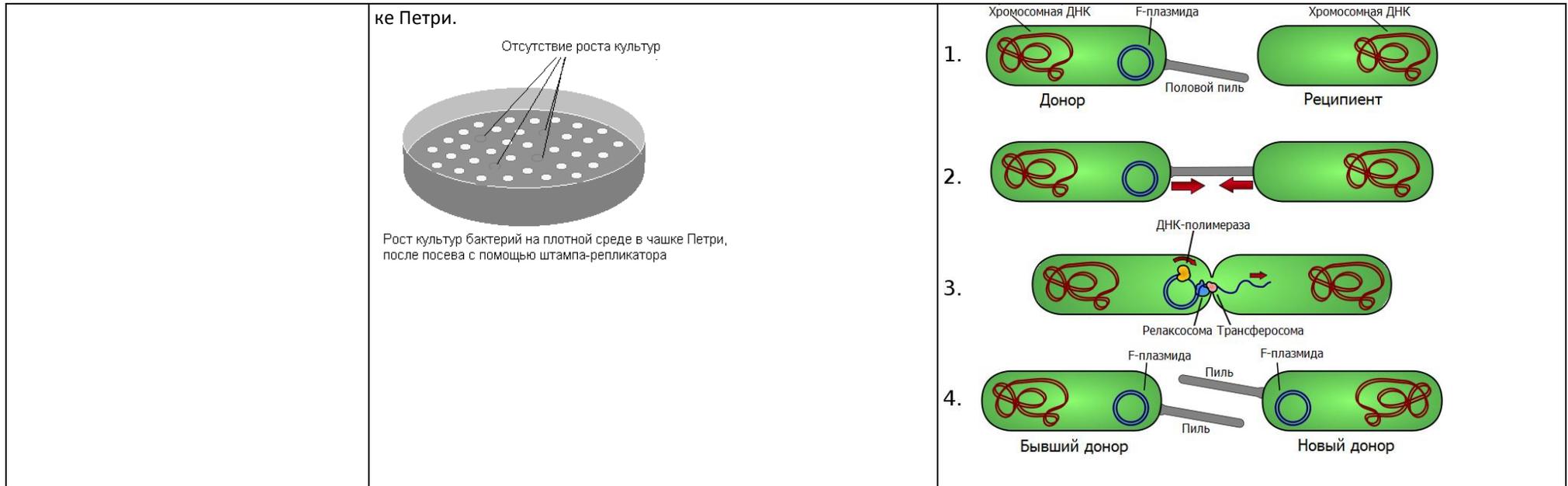
Занятие № 7. Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики

<p>Перечень изучаемых вопросов: Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Принцип генетического анализа.</p> <p>Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.</p> <p>Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция), определение, задачи, оценка, области применения.</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> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется одна на 2-х студентов

Задание	Результаты										
<p>1. Идентификация чистой культуры (учёт):</p> <ul style="list-style-type: none"> - провести учет результатов биохимических тестов, осуществить интерпретацию результатов, сделать заключение. 	вид	морфология	Биохимические признаки							Заключение:	
			глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H ₂ S	индол		подвижность
	E. coli	Грам- палочка	Кг	Кг	Кг	Кг	-	-	+		+
	S. Typhi	Грам- палочка	К	-	К	К	-	+	-		+
	S. Paratyphi A	Грам- палочка	Кг	-	Кг	Кг	-	-	-		+
	S. Schottmuelleri	Грам- палочка	Кг	-	Кг	Кг	-	+	-	+	
	X-микроб										
<p>2. Поставить ПЦР для обнаружения ДНК <i>M.tuberculosis</i> в бронхоальвеолярном лаваже пациента туберкулезом.</p> <p>Определение <i>M.tuberculosis</i> в промывных водах бронхов основано на обнаружении и амплификации последовательности гена MPV64 (общего для <i>M. tuberculosis</i> и <i>M. bovis</i>). В результате реакции происходит накопление продукта (ампликонов) длиной 357 п.н.</p>	<p>Схема проведения ПЦР</p> <p>1. Выделение ДНК:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Маркировка пробирок для выделения ДНК (эппендорфы на 1,5 мл с замочком). Внесение 100 мкл лаважной жидкости и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК • Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской). <p>2. Постановка ПЦР:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Приготовление реакционной смеси: 										

	<ul style="list-style-type: none"> • Маркировка пробирок для ПЦР (эппендорфы на 0,5 мл с парафином). • Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки. • Амплификация (демонстраторий), 1 час. <p>3. Детекция: электрофорез в геле (демонстраторий, 20 мин), просмотр на трансиллюминаторе (демонстраторий).</p> <p>4. Учет и оценка результата.</p>	
<p>3. 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. 	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> D (донор) F⁺ tre⁺ leu⁺ str^S</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>0.5 мл</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> R (реципиент) F⁻ tre⁻ leu⁻ str^R</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>0.5 мл</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Рекомбинант tre leu str</p> </div> </div> <p>Минимальная среда без треонина и лейцина, стрептомицин 100 мкг/мл.</p> <p>Учет производится после 24 часов инкубации при 37°C</p> <p>Заключение:</p>	
<p>4. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - метод реплик; - штамп-репликатор. 	<p>Метод реплик позволяет осуществить одномоментный посев до 100 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 чаш-</p>	<p>Схема опыта конъюгации</p>



ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ (ПЦР)

<p>Этапы</p> <ul style="list-style-type: none"> - забор материала для исследования; - обработка клинического материала; - амплификация (денатурация-отжиг(гибридизация)- удлинение) (см. схему); - детекция продуктов амплификации; - учет и оценка результата. <p>Аппаратура:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ламинарный шкаф 2-го класса защиты - центрифуга 12000-14000 об/мин - вортекс - термоблок - ПЦР-бокс - термоциклер (см. рисунок) - камера для вертикального/горизонтального электрофореза - источник питания - трансиллюминатор - система видеодокументирования - ридер - вошер - термостат (термошейкер) <p><u>Методы детекции продуктов ПЦР</u></p>	
---	--

- электрофоретическое разделение в агарозном геле с УФ-детекцией при окрашивании бромистым этидием;
- ГИФА (гибридизационно - ферментный анализ);
- флуоресцентная метка (детекция «по конечной точке» или «в режиме реального времени»):

- детекция конечной флуоресценции – Fluorescence of End Point (FEP)
- детекция флуоресценции в ходе реакции – Fluorescence in Real-Time (FRT)
 - объективность исследования
 - возможность количественного анализа
 - высокая скорость исследования
 - минимальный риск контаминации
 - высокая эффективность анализа
 - автоматический учет результатов
 - менее жесткие требования к организации ПЦР лаборатории

Оценка метода:

- высокая чувствительность при высокой специфичности анализа;
- раннее выявление возбудителя в период «серологического окна»;
- возможность строгих количественных измерений;
- неоднозначность прогностической оценки положительного результата;
- высокие требования к оснащению лаборатории, качеству тест-наборов и строжайшее соблюдение регламента исследования во избежание получения ложных результатов;
- небольшие затраты времени.

30 - 40 cycles of 3 steps :

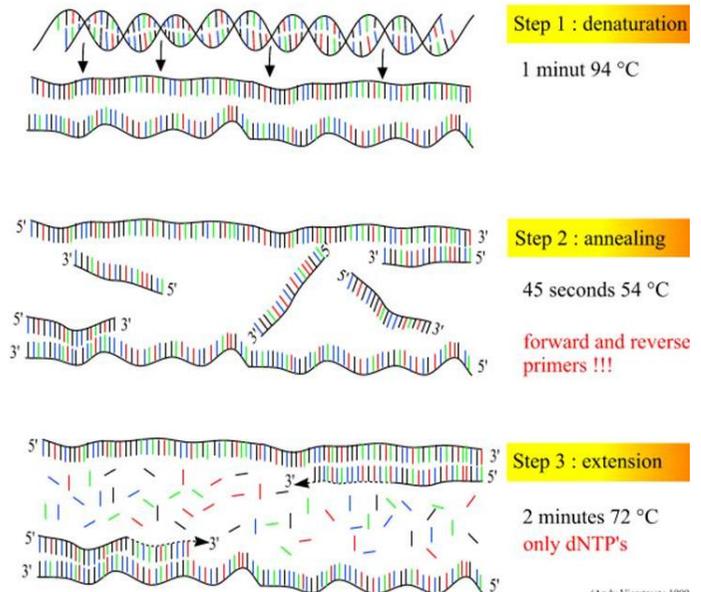


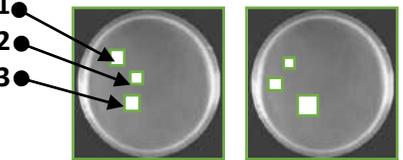
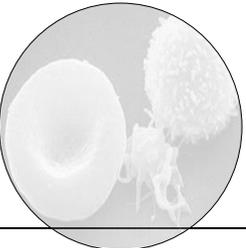
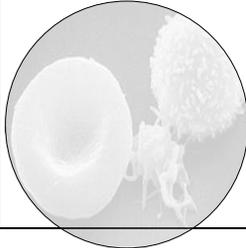
Схема этапа амплификации (Andy Vierstraete, 1999)

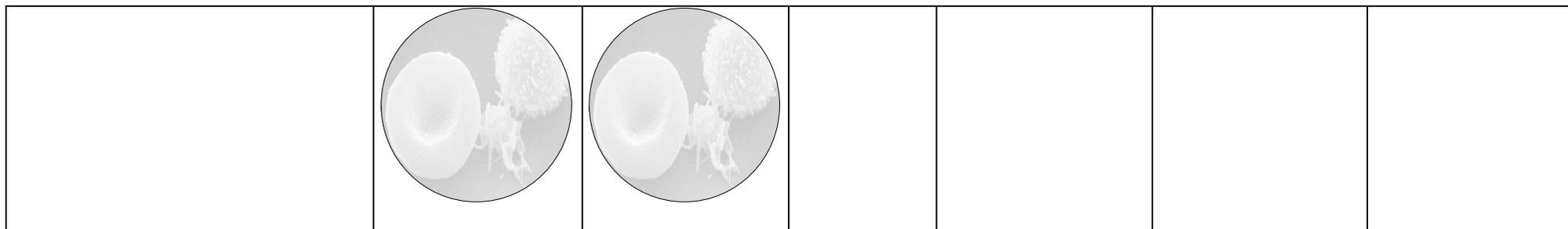
Подпись преподавателя _____

Занятие № 8. Экология микробов. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Инфекция

<p>Перечень изучаемых вопросов: Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении. Распространение микробов в природе. Микрофлора почвы, воздуха и воды.</p> <p>Характеристика нормальной микрофлоры человека и её биологическая роль. Методы изучения нормальной микрофлоры. Гнотобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.</p> <p>Инфекция: определение, условия развития, классификация. Эволюция микробов и инфекционных заболеваний.</p> <p>Патогенность и вирулентность микробов, генетический контроль. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [5], [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты				
<p>1. Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисбактериоза.</p>	<p>1. Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. р-ром;</p> <p>2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи рук, лица и др., слизистой оболочки языка, щеки и др. – 0,5 мин;</p> <p>3. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) – 1 мин;</p> <p>4. Бумагу удалить.</p> <p>5. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24-48 час.</p>		<p>Кровяной агар Среда Эндо</p> 		
<p>2. Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать (<i>задание выполняется на следующем занятии</i>).</p> <p>3. Приготовление и окраска по Граму препарата зубного налета, микроскопия.</p> <p>4. Учет опыта конъюгации (см. предыдущее занятие).</p> <p>5. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - препарат зубного налёта, окраска по Граму. - методы определения факторов патогенности (капсулы, плазмокоагулазы, гемолизины, лецитиназы). 	<p>Результаты выявления дисбактериоза – анализ роста на среде Эндо.</p> <p>Заключение: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>		<p>биотоп</p> <p>1 -</p>	<p>2 -</p>	<p>3 -</p>
<p>3</p> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>		<p>5-1</p> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>	<p>Морфология в мазке</p>	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 



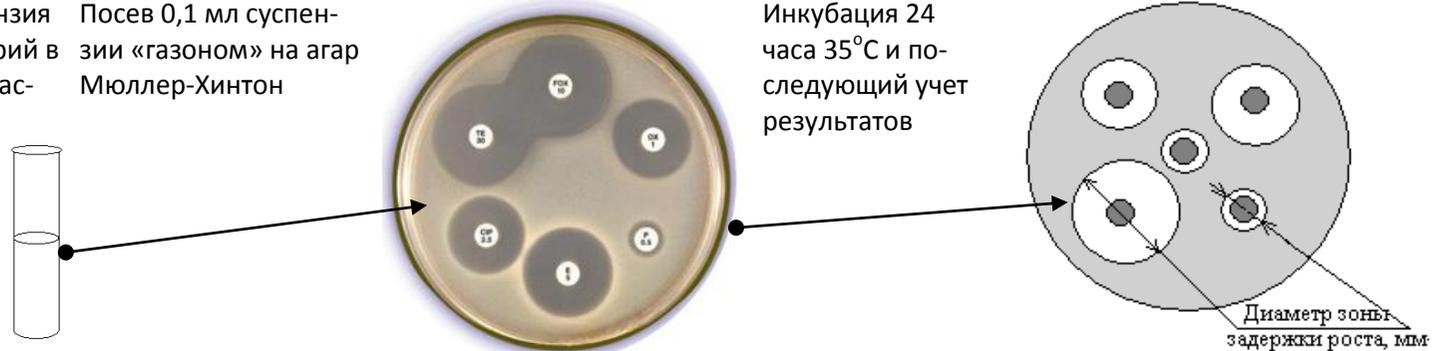
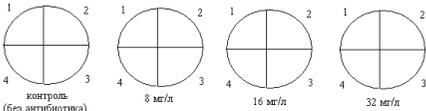
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

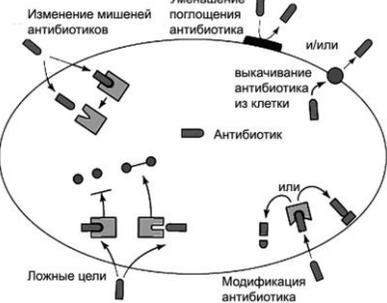
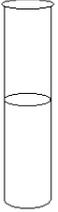
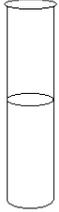
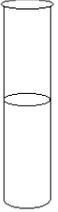
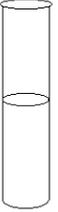
КЛАССИФИКАЦИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ		Методы изучения нормальной микрофлоры
<p>По возбудителю: Инфекции: бактериозы; вирусозы; Инвазии: микозы; протозоозы; гельминтозы; инфекстации</p>	<p>По механизмам передачи: Горизонтальный: аэрозольный; фекально-оральный; трансмиссивный; контактный вертикальный: трансплацентарный</p>	<p>Для изучения нормальной микрофлоры применяют два метода: бактериоскопический и бактериологический. <u>Бактериоскопический метод.</u> Имеет большое самостоятельное значение для тех биотопов организма человека, в которых обитает большое количество различных видов микроорганизмов (полость рта, кишечник, влагалище). Он позволяет получить общее представление о составе микрофлоры, а также выявить те микроорганизмы, которые не удастся культивировать на питательных средах. <u>Бактериологический метод.</u> Применяют для исследования всех биотопов, выполняют с учетом данных бактериоскопии. <u>Основные принципы бактериологического исследования:</u> а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера CO₂ и т.д.). <u>Методы взятия материала для исследования:</u> 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. 6. Метод аппликаций – снятие микроорганизмов с помощью бумажных или тканевых пластинок определенной площади.</p>
<p>По источникам инфекции: - антропонозы (человек); - зоонозы (животные); - сапронозы (внешняя среда).</p>	<p>По поражаемым системам органов: инфекции дыхательных путей; инфекции ЖКТ; инфекции крови; инфекции кожи и др.</p>	
<p>По кратности инфицирования: - первичная; - вторичная; - реинфекция; - суперинфекция; - рецидив.</p>	<p>По распространенности: - очаговая; - системная; - генерализованная: - бактериемия; - токсинемия; - сепсис: - септицемия; - септикопиемия</p>	
<p>По длительности: - острые; - хронические: - первично-хроническая; - вторично-хроническая; - медленные</p>	<p>По числу возбудителей: - моноинфекция; - смешанная инфекция</p>	
<p>По месту заражения: - внутрибольничная;</p>	<p>По путям инфицирования: - эндогенные;</p>	

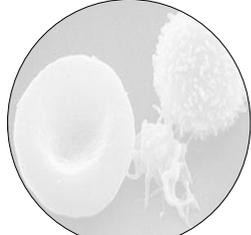
- внебольничная	- экзогенные	Подпись преподавателя _____
По выраженности: микроносите́льство; инаппарантная (бессимптомная, субклиническая); стертая; манифестная: - легкая, - средней тяжести, - тяжелая	Стадии инфекционного заболевания: 1 - инкубационный период; 2 - продромальный период; 3 - разгар заболевания; 4 - исход заболевания: - выздоровление, - микроносите́льство, - хронизация, - летальный	

Занятие № 9. Методы изучения чувствительности к антибиотикам. Экспериментальный и экспресс методы

<p>Перечень изучаемых вопросов: Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Группы химиопрепаратов. Требования к химиопрепаратам.</p> <p>Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения.</p> <p>Экспериментальный метод исследования, оценка, этапы. Применение в микробиологии. Методы заражения. Вскрытие.</p> <p>Современные подходы к диагностике инфекций, принцип определения на основе обнаружения продуктов биосинтеза. Хромато-масс-спектрометрический анализ. Экспресс-методы диагностики.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.																																													
Задание		Результаты																																											
<p>1. Опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.</p>		<p>Суспензия бактерий в физ. растворе</p> <p>Посев 0,1 мл суспензии «газоном» на агар Мюллер-Хинтон</p> <p>Инкубация 24 часа 35°C и последующий учет результатов</p>  <p>Нанесение дисков с антибиотиками на среду</p>																																											
<p>2. Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом количественных разведений в МПА.</p>		<p>Чашки с разведениями ампициллина</p>  <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td colspan="4">Критерий интерпретации результатов</td> </tr> <tr> <td colspan="4">МИК, мг/мл</td> </tr> <tr> <td>антибиотик</td> <td>резистентный</td> <td>умеренно-резистентный</td> <td>чувствительный</td> </tr> <tr> <td>ампициллин</td> <td>≥32</td> <td>16</td> <td>≤8</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Наименование культуры</td> <td>Величина МИК, мг/л</td> <td colspan="2">Интерпретация результата</td> </tr> <tr> <td>культура 1</td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>культура 2</td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>культура 3</td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>культура 4</td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td colspan="4">Заключение</td> </tr> </table>				Критерий интерпретации результатов				МИК, мг/мл				антибиотик	резистентный	умеренно-резистентный	чувствительный	ампициллин	≥32	16	≤8	Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата		культура 1				культура 2				культура 3				культура 4				Заключение			
Критерий интерпретации результатов																																													
МИК, мг/мл																																													
антибиотик	резистентный	умеренно-резистентный	чувствительный																																										
ампициллин	≥32	16	≤8																																										
Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата																																											
культура 1																																													
культура 2																																													
культура 3																																													
культура 4																																													
Заключение																																													

<p>3. Учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков.</p>	Антибиотограмма							Антибиотик	Диаметр зон ингибции роста (мм)			
	антибиотик	Диаметр зоны, мм	Результат	резистентный	умеренно-резистентный	Чувствительный						
								Стафилококки				
								Бензилпенициллин	≤28	–	≥29	
								Оксациллин				
								S.aureus	≤10	11-12	≥13	
								КОС	≤17	-	≥18	
								Канамицин	≤13	14–17	≥18	
								Гентамицин	≤12	13–14	≥15	
								Ципрофлоксацин	≤15	16–20	≥21	
								Тетрациклин	≤14	15–18	≥19	
								Эритромицин	≥23	14–22	≥23	
								Линкомицин	≤13	17–20	≥21	
								Хлорамфеникол	<17	13–17	≥18	
								энтеробактерии				
							Ампициллин	≤13	14-16	≥17		
							Цефазолин	≤14	15-17	≥18		
							Цефотаксим	≤14	15-22	≥23		
							Канамицин	≤13	14-17	≥18		
							Гентамицин	≤12	13-14	≥15		
							Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21		
							Ломефлоксацин	≤18	19-21	≥22		
							Тетрациклин	≤14	15-18	≥19		
							Доксициклин	≤12	13-15	≥16		
							Хлорамфеникол	≤12	13-17	≥18		
 <p>Некоторые варианты механизмов устойчивости бактерий к антибиотикам</p>							<p>5-1 Препарат _____ Окраска _____</p>			<p>5-2 Препарат _____ Окраска _____</p>		
<p>4. Учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом серийных разведений в бульоне.</p>	0,5 мкг/мл	1,0 мкг/мл	2,0 мкг/мл	4,0 мкг/мл	8,0 мкг/мл	16,0 мкг/мл	32,0 мкг/мл	Кон- троль				
<p>5. Ознакомление с демонстрационными материалами: - Ускоренный метод определения чувствительности микроорганиз-</p>												

<p>мов к антибиотикам; - <i>B.anthraxis</i> в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму; - <i>Y.pestis</i> в мазке-отпечатке селезенки сурка, окраска по Леффлеру.</p>	<p>Заключение _____</p> <p>_____</p>		
---	--------------------------------------	---	---

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

Метод диффузии в агар, при котором используются диски, импрегнированные специально подобранными концентрациями антимикробных агентов. Диаметр зоны задержки роста соответствует активности препарата и чувствительности бактерий.

Недостатки метода: полуколичественная оценка чувствительности, неприемлем для тестирования медленно растущих микроорганизмов (*M. tuberculosis*) и медленно диффундирующих антибиотиков (полипептиды).

Метод серийных разведений антибиотика в бульоне/ плотной среде

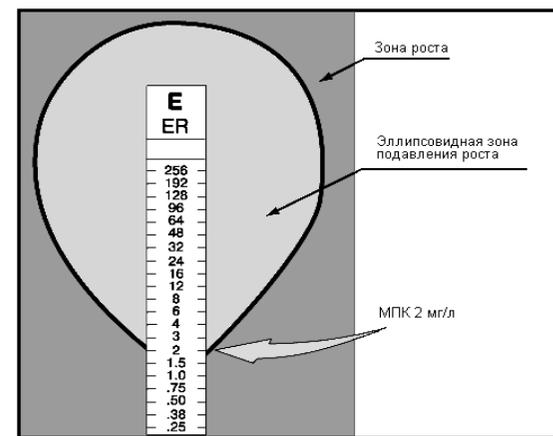
Преимущества метода: количественная оценка чувствительности, возможность одномоментного исследования большого числа культур.

Недостатки метода: более материалоемко и трудоемко по сравнению с методом бумажных дисков. Более целесообразен для научных исследований.

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.



Экспериментальный метод исследования – совокупность способов искусственного воспроизведения клинической картины инфекционных болезней или их синдромов в эксперименте для выполнения следующих задач:

- Диагностика инфекционных болезней;
- Выделение и идентификация чистой культуры;
- Определение вирулентности;
- Выделение и идентификация экзотоксинов;
- Культивирование вирусов;
- Получение иммунопрепаратов;
- Проверка безвредности и эффективности лечебных, химио и иммунопрепаратов и другие.

- Этапы метода:**
1. Забор материала (виды материала см. Бактериоскопический метод),
 2. Обработка материала.
 3. Выбор модели, исходя из ее чувствительности к предполагаемому возбудителю, ее стандартизация и маркировка.
 4. Заражение в зависимости от тропизма микроба (подкожный, внутрикожный, внутрибрюшинный, внутримышечный, интрацеребральный, внутривенный, в желудок, интраназальный и др.).

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-лактамам антибиотикам; обладают 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 стан-

5. Регистрация признаков болезни.
6. Последующий забор материала и проведение бактериологического, серологического, аллергологического исследования.
7. Изучение патологоанатомической и патоморфологической картины. Для использования в качестве модели животных - протокольный посев (для выявления обсемененности и выделения чистой культуры) с последующим приготовлением мазков, проведение иных методов индикации.
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, иногда длителен, небезопасен.

дартных представителей вида.

Подпись преподавателя _____

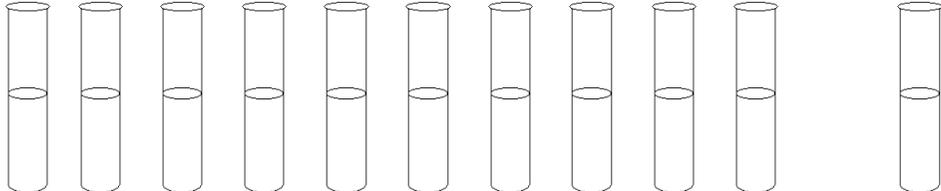
Занятие № 10. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Общая микробиология»

Перечень вопросов к итоговому занятию	Устный опрос	Письменная работа	Тестирование	Практический навык	Итоговая оценка
1. Микробиология как наука, основные этапы развития. Медицинская микробиология, задачи, методы.	27. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, <i>Is</i> -последовательности), характеристика, биологическая роль.				
2. Характеристика бактериоскопического метода исследования.	28. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.				
3. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии. Техника иммерсионной микроскопии.	29. Мутационная изменчивость. Генетические рекомбинации. Практическое значение изменчивости микроорганизмов. Понятие о геномной инженерии и биотехнологии.				
4. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски.	30. Молекулярная диагностика. Цель. Задачи. Методы. Молекулярная гибридизация.				
5. Сложные методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.	31. Полимеразная цепная реакция.				
6. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.	32. Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.				
7. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования, функции. Методы выявления капсулы.	33. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности.				
8. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки.	34. Роль макроорганизма, физической и социальной среды в инфекционном процессе.				
9. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.	35. Эволюция микроорганизмов и инфекционных заболеваний.				
10. Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.	36. Биологический метод исследования: задачи, оценка, этапы.				
11. Подвижность бактерий, методы выявления подвижности.	37. Химиотерапия и химиопрофилактика. Антибиотики, определение, классификация.				
12. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.	38. Механизм действия антибиотиков.				
13. Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения.	39. Побочное действие антибиотиков.				
14. Систематическое положение и морфология актиномицетов.	40. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам.				
15. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.	41. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.				
16. Систематическое положение и морфология риккетсий.	42. Экология микроорганизмов. Типы экологических связей.				
17. Систематическое положение и морфология хламидий.	43. Характеристика нормальной микрофлоры человека и её биологическая роль. Методы изучения. Гнотобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.				
18. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и микроэлементов. Способы пи-	44. Стерилизация, дезинфекция. Определение понятий, методы проведения.				

<p>тания. Способы проникновения питательных веществ через мембрану.</p> <p>19. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по типу дыхания.</p> <p>20. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.</p> <p>21. Характеристика бактериологического метода исследования.</p> <p>22. Питательные среды для аэробов и анаэробов. Требования, предъявляемые к питательным средам, классификация.</p> <p>23. Методы выделения чистых культур аэробов.</p> <p>24. Методы выделения чистых культур анаэробов.</p> <p>25. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, молекулярно-генетическая.</p> <p>26. Биохимический метод идентификации: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизина и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов.</p>	<p>45. Асептика, антисептика. Определение понятий. Способы проведения. Антисептические средства.</p> <p style="text-align: center;">Перечень практических навыков.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Приготовить микропрепарат из бульонной культуры бактерий. 2. Приготовить микропрепарат из агаровой культуры бактерий. 3. Окрасить препарат водным раствором фуксина. 4. Окрасить препарат водным раствором метиленовой синьки. 5. Окрасить препарат по Граму. 6. Техника иммерсионной микроскопии. 7. Определить морфологию чистой культуры стафилококка, окраска по Граму. 8. Определить морфологию чистой культуры <i>E. coli</i>, окраска по Граму. 9. Определить морфологию грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в смеси, окраска по Граму. 10. Определить морфологию культуры в мазке, окрашенной по Гинсу-Бурри. 11. Определить морфологию чистой культуры стрептобацилл, окраска по Граму.
--	---

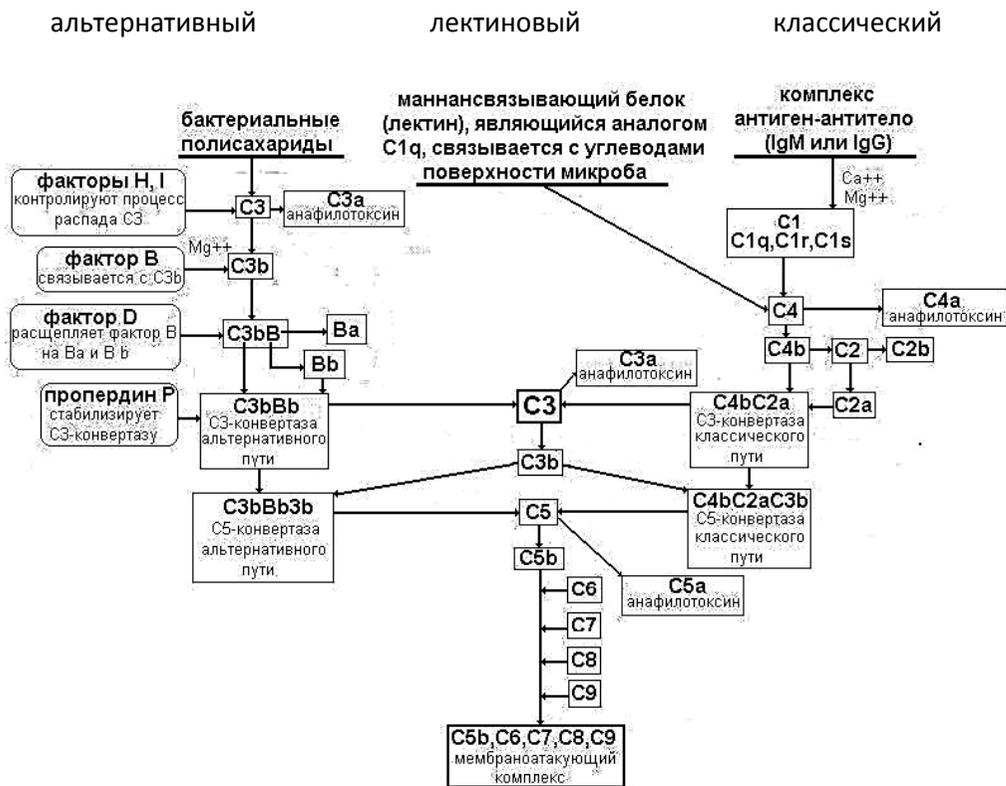
Занятие № 11. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система.

Методы изучения врожденного иммунитета

<p>Перечень изучаемых вопросов: Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы (CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, цитокины, адгезины и др.).</p> <p>Иммунитет, определение понятия, виды иммунитета. Факторы иммунной и неиммунной природы врожденного иммунитета. Система комплемента: состав, пути активации, функции. Лизоцим. Бета-лизины. Белки острой фазы.</p> <p>Система полиморфноядерных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы.</p> <p>Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Естественные киллеры.</p> <p>Методы определения активности комплемента и показателей фагоцитоза.</p>		<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [17], [18], [19], [21] 				
		Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
<p>Лабораторная работа – выполняется индивидуально.</p>						
Задание		Результаты				
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.</p> <p>2. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - незавершенный фагоцитоз нейтрофилами <i>N.gonorrhoeae</i> - незавершенный фагоцитоз макрофагами <i>K.rhinoscleromatis</i> <p>3. Учесть активность комплемента по 50% гемолизу.</p>		<p>Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15-120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому-Гимзе, подсчитывают 100 клеток в нескольких полях зрения. Рассчитывают показатели:</p> <p>ФП (фагоцитарный показатель) = кол-во активных фагоцитов/кол-во всех фагоцитов Норма* - 40-60 %.</p> <p>ФЧ (фагоцитарное число) = кол-во фагоцитированных микробов/кол-во активных фагоцитов Норма* - 4-7.</p>		<p>2-1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>2-2 Препарат _____ Окраска _____</p> 	
		<p>Сыворотку разводят физ р-ром и вносят в пробирки от 0,05 до 0,5 мл. Объем проб доводят до 1,5 мл физ. р-ром. Вносят 1,5 мл гем. системы, инкубируют 37°С - 45 мин, охлаждают при 4°С, центрифугируют 1500 об. - 5 мин. Определяют объем сыворотки, вызывающий лизис 50 % сенсibilизированных эритроцитов (условную гемолитическую единицу - CH50). Рассчитывают количество CH50 в 1 мл цельной сыворотки.</p> <p>Количество сыворотки 1:10, мл</p> <p>0,05 0,1 0,15 0,2 0,25 0,3 0,35 0,4 0,45 0,5 50% гемолиз</p> 				
		<p>1 CH₅₀ – в _____ мл сыворотки</p> <p>X CH₅₀ – в 1 мл</p> <p>Норма* - 40-60 CH₅₀.</p> <p>* - только для данной практической работы</p>				

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

Пути активации системы комплемента



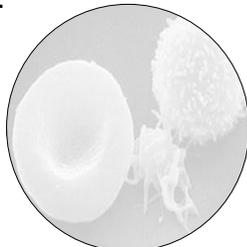
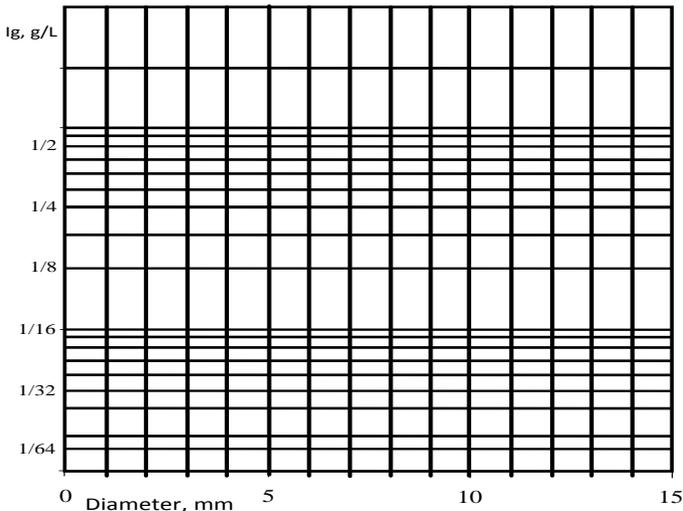
Пути активации	альтернативный	лектиновый	классический
Вещества-активаторы			
Состав C3-конвертазы			
Состав C5-конвертазы			
Образование мембрано-атакующего комплекса (МАК)			

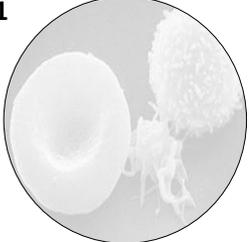
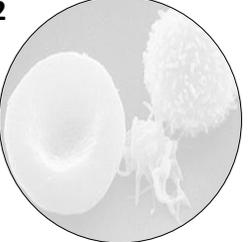
Подпись преподавателя _____

Занятие № 12. Клеточный и гуморальный иммунный ответ

<p>Перечень изучаемых вопросов: Иммунный ответ организма, определение, условия развития. Антигены: строение, свойства, классификация. Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Т-система лимфоцитов. Маркёры Т-клеток. Т-клеточный рецептор (ТКР). Генетический контроль разнообразия ТКР. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Т-хелперы 1-го и 2-го типов. Методы оценки Т-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты. В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор. CD-антигены. Ростовые и дифференцировочные факторы В-лимфоцитов. Динамика развития гуморального иммунного ответа. Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение. Методы оценки В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>		<p>Источники: - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [17], [18], [19], [21]</p>	
Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа
			Итог

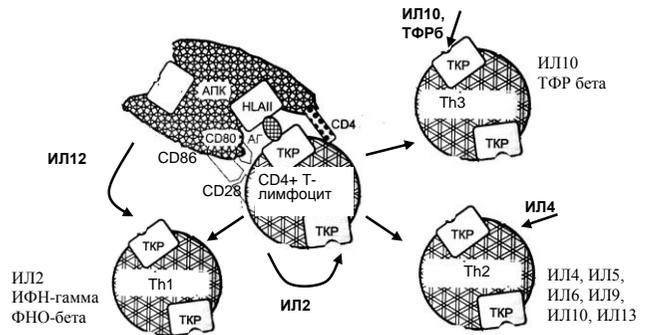
Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты																														
1. Определить количественное содержание В-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.	Метод выявляет маркер CD20 на поверхности В-лимфоцитов; Норма* В-лимфоцитов (CD20) = 8-20% от общего числа лимфоцитов.	1-1 	1-2 																												
2. Определить содержание иммуноглобулинов G в сыворотке крови методом простой радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини.	<p align="center">Построение калибровочного графика по стандарту Стандарт IgG = 20 г/л</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>разведение</th> <th>Концентрация, г/л</th> <th>Диаметр, мм</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Точка 1</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Точка 2</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Точка 3</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Точка 4</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Точка 5</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Х-сыворотка</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>За норму принять концентрацию IgG 11,4 (9,5-14,5) г/л</p> <p>Заключение _____</p> <p>_____</p>				разведение	Концентрация, г/л	Диаметр, мм	Точка 1				Точка 2				Точка 3				Точка 4				Точка 5				Х-сыворотка			
	разведение	Концентрация, г/л	Диаметр, мм																												
Точка 1																															
Точка 2																															
Точка 3																															
Точка 4																															
Точка 5																															
Х-сыворотка																															
																															

<p>3. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p> <p>4. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - иммунное розеткообразование для определения Т-лимфоцитов. - реакция бласттрансформации лимфоцитов. 	<p>3</p> 		<p>4-1</p> 	<p>4-2</p> 	
--	---	--	---	---	--

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

Схема развития КИО (первичный иммунный ответ)

Локализация	Этапы	
I. Индукция CD4+ Т-эффекторов		
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.	
Вторичные лимфоидные органы	<p>2. АПК процессируют и презентуют антигены по эндосомному пути CD4+ наивным Т-лимфоцитам.</p>  <p>3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в CD4+ _эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др):</p> <ol style="list-style-type: none"> Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.); Происходит распознавание антигена (ТКР+ ГКГС II-Ag); Происходит костимуляция (CD28 – CD80, 86); на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2R) и начинается синтез ИЛ2; после стимуляции ИЛ2 лимфоцит начинает пролиферировать; дифференцировка в Th1 происходит под влиянием ИЛ12, выделяемого АПК. Этому способствуют внешние цитокины - ИФН-гамма; дифференцировка в Th2 происходит по умолчанию. Этому способствует внешний ИЛ4; дифференцировка в Th3 в лабораторных условиях происходит под влиянием больших количеств ИЛ10 и/или ТФР-бета; зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию. 	
Кровь, ткани, вторичные лимфоидные органы	<p>4. Т-эффекторы характеризуются:</p> <ol style="list-style-type: none"> способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК; способностью синтезировать различные цитокины (различного профиля); способностью к рециркуляции в определенных тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, мочеполового трактов, полостей и т.д.); <p>5. CD4+ Т-эффекторы отличаются, т.е. могут быть идентифицированы по:</p> <ol style="list-style-type: none"> набору адресных молекул для миграции в определенные ткани; спектру синтезируемых цитокинов; <p>г) способностью выходить в любые ткани при воспалении;</p> <ol style="list-style-type: none"> быстрой гибелью от апоптоза без активации; отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени); способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное количество). <p>в) набору рецепторов для хемокинов;</p> <p>г) набору молекул контактного взаимодействия.</p>	

	6. CD4+ Т-эффекторы выполняют функции: а) Т-хелперов: помощь В-лимфоцитам в синтезе антител: активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2); переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазмоциты) помощь наивным CD8+ Т-лимфоцитам: активация и пролиферация (ИЛ2) дифференцировка	б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, противовоспалительные цитокины, факторы роста сосудов, фибробластов) в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-бета, контактная супрессия; г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.
--	---	--

II. Индукция CD8+ Т-эффекторов

	1. Индукция CD4+ Т-эффекторов (см. выше). 2. АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы): а) АПК инфицируются вирусами (маловероятно); б) АПК захватывают клетки, погибшие от внутриклеточной инфекции, опухолевые клетки, клетки трансплантата и т.д. путем фагоцитоза, а также молекулы белков путем макропиноцитоза. 3. АПК презентуют антиген CD8+ наивным Т-лимфоцитам по цитоплазматическому пути: а) АПК презентуют захваченные антигены по цитоплазматическому пути благодаря механизму перекрестной презентации (т.е. происходит передача антигенов из эндосомного пути в цитоплазматический); б) считается, что наивный CD8+ Т-лимфоцит не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации. 4. CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму (см. выше п. 4): а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов; б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ лимфоцитов свидетельствует в пользу трехкомпонентной модели (АПК+Т-хелпер+Т-киллер) и перекрестной презентации.	
Ткани, вторичные органы лимфоидной системы, кровь, ткани	5. CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции: а) киллинг. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавании антигена на клетке-мишени немедленно ее лизируют. Активированный Т-киллер способен лизировать несколько клеток-мишеней. Спустя короткое время Т-киллер подвергается апоптозу. Отдельные Т-киллеры возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти ; б) секреция цитокинов (уступают CD4+ Т-эффекторам). Выделяют CD8+ Т-эффекторы I и II типов; в) регулирование иммунного ответа (уничтожение АПК, синтез про- и противовоспалительных цитокинов.	

Клетки и молекулы ИС	Т-независимый ГИО	Т-зависимый ГИО	КИО	В таблице слева дайте характеристику вариантов адаптивного иммунитета, указав участие клеток, молекул иммунной системы
Антиген				
АПК				
Tx0				
Tx1				
Tx2				
В лимфоциты				
ИЛ Tx1				
ИЛ Tx2				
Т - киллеры				
Т-эффекторы ГЗТ				
Антитела				
Макрофаги				
Плазмоциты				

Схема строения Т-клеточного рецептора

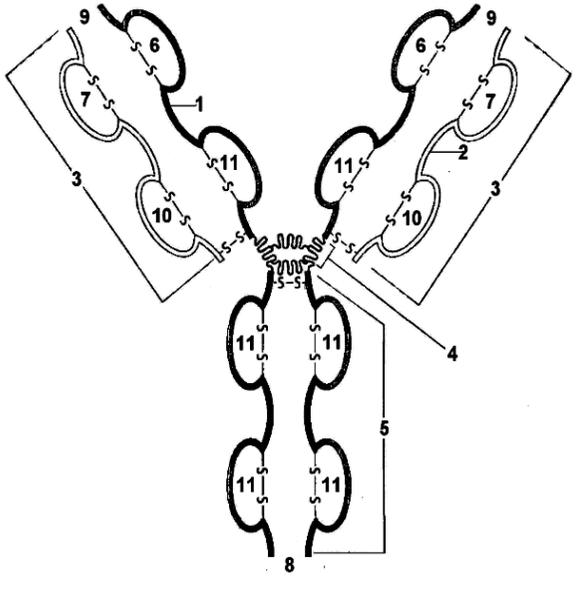
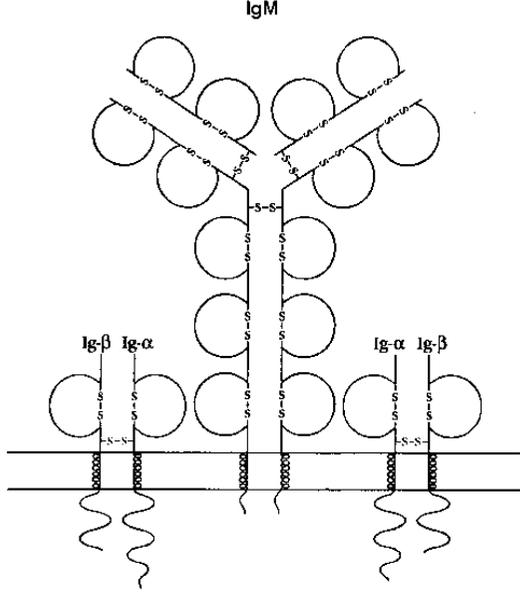
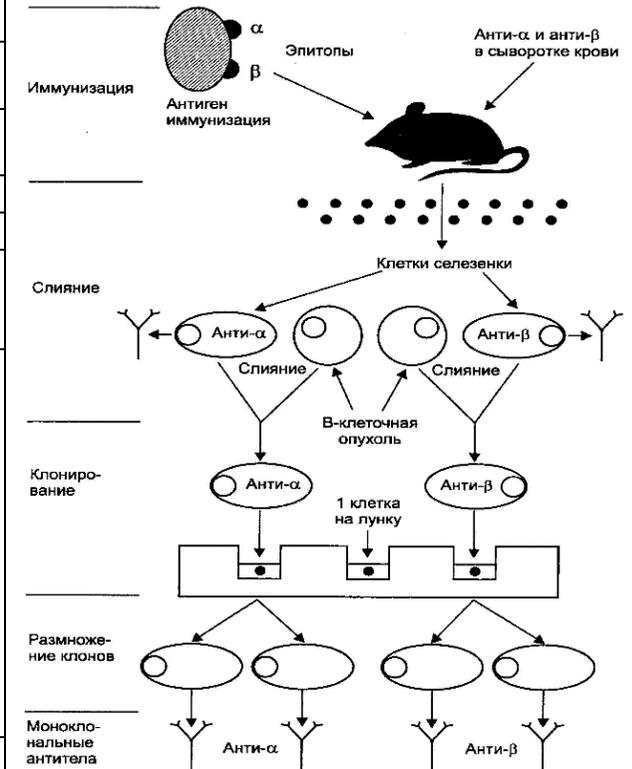
Строение молекулы иммуноглобулина	Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы иммуноглобулина, представленного на схеме слева		Строение В-клеточного рецептора
	Легкая цепь (L)		
	Вариабельный домен легкой цепи		
	Константный домен легкой цепи		
	Тяжелая цепь (H)		
	Вариабельный домен тяжелой цепи		
	Константные домены тяжелой цепи		
	Шарнирный участок		
	Fc-фрагмент		
	Fab-фрагмент		
	Активный центр (КДО)		
	Клеточный рецептор		
В соответствии с приведенными характеристиками укажите класс иммуноглобулина и схематично нарисуйте структуру молекулы			
Структура молекулы			Класс Ig
	Мол.масса 154 кДа. 85% всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке взрослого 7-18 г/л. Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противоинойфекционной защите. Специфичность высокая.		
	Мол.масса 900 кДа. 5-10% всех классов иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,4-2,2 г/л. Пентамер. Образуются преимущественно при первичном иммунном ответе. Специфичность невысокая.		
	Мол. масса 160 кДа. 5-15% всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,5-3,5 г/л. Два субкласса. Мономерные, димерные, тримерные. Сывороточный является мономером, а секреторный (экзокринный) ди- или тримером. Секреторный выделяется на внешнюю сторону слизистой, обеспечивая местный иммунитет.		
	Мол.масса 190 кДа. 1% всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,25 мг/л. Мономер. Высокая цитотоксичность. Участвуют в аллергических реакциях немедленного типа.		
	Мол.масса 185 кДа. Около 1% всех иммуноглобулинов. Мономер. Экспрессируются в основном на мембране В-лимфоцитов, участвуют в их дифференцировке, выполняют рецепторную функцию.		
	Мол.масса 154 кДа. 85% всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке взрослого 7-18 г/л. Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противоинойфекционной защите. Специфичность высокая.		

СХЕМА РАЗВИТИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

локализация	этапы
I. ИНДУКЦИЯ Т-ЭФФЕКТОРОВ (ХЕЛПЕРОВ)	
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.
Вторичные лимфоидные органы	2. АПК процессируют и презентуют антигены по эндосомному пути CD4+ наивным Т-лимфоцитам. 3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.).
Кровь, ткани	4. Т-эффекторы рециркулируют по организму.
II. ИНДУКЦИЯ В-ЭФФЕКТОРОВ (ПЛАЗМОЦИТОВ)	
Ткани	1. Антиген захватывается фолликулярными ДК и транспортируется во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, пейеровы бляшки и др.). Антиген не процессируется, сохраняется на мембране (например, в составе иммунных комплексов) в течение длительного времени (до года и более).
<p>1. В-лимфоцит захватывает антиген и презентует его в контексте ГКГС II типа, на его поверхности возрастает плотность CD86. 2. Т-эффектор получает активирующие сигналы (распознает антиген и контактирует с молекулами адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий. 3. Активированный Т-эффектор экспрессирует CD40L (лиганд) и секретирует цитокины (ИЛ4, 5, 6). 4-5. В-лимфоцит пролиферирует и дифференцируется в плазмоцит.</p>	
Вторичные органы лимфоидной системы, красный костный мозг, кровь	2. В-лимфоцит захватывает антиген, процессирует и презентует его Т-эффектору. Специфический эффектор активируется и активирует В-лимфоцит с помощью контактных (молекулы адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий. 3. В-лимфоцит пролиферирует, выходит в кровь и перемещается во вторичные лимфатические органы и костный мозг. 4. В-лимфоциты превращаются в плазмоциты и синтезируют иммуноглобулины в течение ограниченного времени (до 3 месяцев). 5. Отдельные В-лимфоциты возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти.
III. РЕАЛИЗАЦИЯ ФУНКЦИИ АНТИТЕЛ	

Принципиальная схема получения моноклональных антител (МАТ)

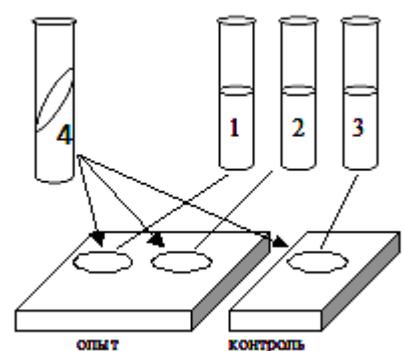
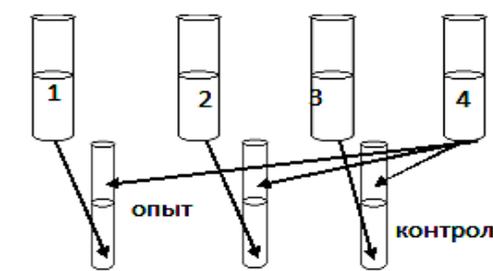
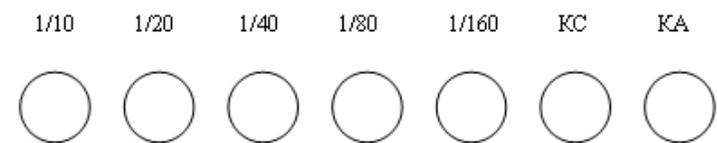
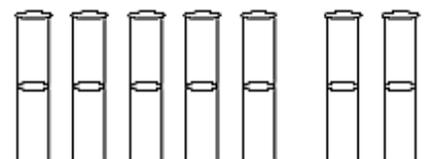


Подпись преподавателя _____

Занятие № 13. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования

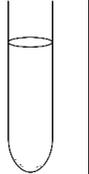
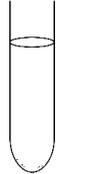
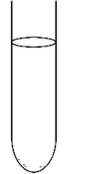
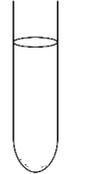
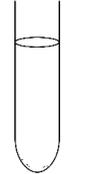
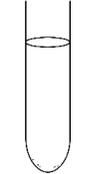
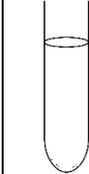
<p>Перечень изучаемых вопросов: Серологический метод исследования, характеристика. Титр анти-тел. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки.</p> <p>Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации, коагглютинации.</p> <p>Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: а) кольцепреципитации; б) двойной диффузии в агаре; в) простой радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини; г) иммуноэлектрофорез; д) встречный иммуноэлектрофорез.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [17], [18], [19], [21] 			
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты	
<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p> <p>2. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p> <p>3. Учесть реакцию агглютинации в пробирках.</p> <p>4. Поставить реакцию кольцепреципитации для идентификации X-антигена</p>	<p>РА для идентификации бактерий</p> <p>1. Сыворотка против E.coli 2. Сыворотка против S.Typhi 3. Физ. Р-р 4. Микроб X</p> <p>Заключение:</p> 	<p>Реакция кольцепреципитации для целей экспертизы общества потребителей – определение видовой принадлежности мяса, использованного для приготовления фарша котлеты гамбургера.</p> <p>1. Сыворотка против белков говяжьего мяса 2. Сыворотка против белков мяса лошади 3. Физ. раствор 4. Белок X</p> <p>Заключение:</p> 
<p>РПГА для определения напряженности противодифтерийного иммунитета (защитный титр 1:40)</p> <p>1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 КС КА</p>  <p>Заключение:</p>	<p>Реакция агглютинации Райта с целью диагностики бруцеллеза (диагностический титр 1:200)</p> <p>1/50 1/100 1/200 1/400 1/800 КС КА</p>  <p>Заключение:</p>	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

Реакция агглютинации: схема постановки, учет, характеристика

Произвести раскапывание реагентов согласно таблице: а) расставить и пронумеровать агглютинационные пробирки б) раскапать физраствор в) внести сыворотку пациента в первую, вторую и седьмую (контроль) пробирки. Далее перемешать содержимое второй пробирки и перенести 0,5 мл содержимого в следующую, каждый раз меняя пипетку (наконечник дозатора). Из пятой пробирки после перемешивания удалить 0,5 мл жидкости; г) внести по 0,5 мл стандартного диагностикума в каждую пробирку; д) энергично встряхнуть и поместить в термостат при 37°С на 2 часа; е) произвести предварительный учет результатов; ж) оставить пробирки на 18-20 часов при комнатной температуре (20-25°С); з) произвести окончательный учет результатов реакции.	Реагенты	1	2	3	4	5	6	7	
		1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КА	КС	
	Физ. раствор		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	Сыв. пациента	0,5	0,5				–	0,5	
	Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	
							Удалить 0,5 мл		
	Инкубация 2 часа при 37° С								
	Учет предварительный								
	Инкубация 18-20 часов при 20-25° С								
	Учет								

Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе: ++++ выраженный осадок, мелкодисперсная (пылевидная) взвесь антигена отсутствует; +++ выраженный осадок, незначительное количество взвеси антигена ++ присутствует осадок и достаточно плотная пылевидная взвесь антигена + незначительный осадок, выраженная плотная взвесь антигена - отсутствие осадка, пылевидная взвесь антигена (идентичная контролю антигена)	В зависимости от природы антигена различают: - крупнохлопчатый рыхлый осадок, образующийся при агглютинации бактерий сывороткой против жгутиковых антигенов (обычно выпадает уже через 2 часа инкубации); - мелкозернистый осадок, образующийся при агглютинации бактерий сывороткой против соматических антигенов (окончательно формируется через 18-20 часов инкубации).
--	--

Дайте определение следующим понятиям:

Титр серологической реакции -

Диагностический титр –

Диагностикум –

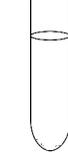
Диагностическая сыворотка –

Подпись преподавателя _____

Занятие № 14. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования

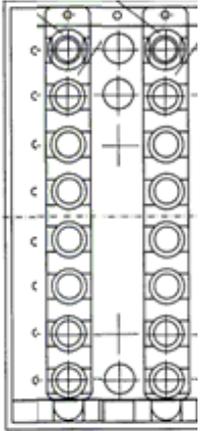
<p>Перечень изучаемых вопросов: Реакции иммунного лизиса, применение. Реакция связывания комплемента: характеристика ингредиентов, постановка, учёт, оценка.</p> <p>Методы иммуноанализа с использованием меченых компонентов. Реакция иммунофлюоресценции (РИФ), прямой и непрямой варианты.</p> <p>Иммуноферментный анализ (ИФА), ингредиенты, постановка, учет, оценка, применение. Радиоиммунный анализ (РИА).</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [17], [18], [19], [21] 										
	<table border="1"> <tr> <th>Опрос</th> <th>Работа</th> <th>Тест</th> <th>Самостоятельная работа</th> <th>Итог</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог					
Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог							

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты									
	1	2	3	4	5	6	7	8		
1. Постановка и учет результатов реакции связывания комплемента (РСК)	Реагенты	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КА	КС	Гем система	
	Физ. раствор		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	4 мл 3% взвеси эритроцитов +	
	Сыв. пациента	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5	4 мл гем. сыворотки	
	Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	–		
	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,	0,5		
	Инкубация 2 часа при 37 ° С								удалить 0,5 мл	
	Гемсистема	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0		
	Инкубация 18-20 часов при 20-25 ° С									
	Учет									
	Закключение:									

Сравнительная специфичность и чувствительность некоторых серологических реакций

Реакция	Специфичность	Чувствительность, грамм белка/литр
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
Иммуноблоттинг	Высокая (подтверждающий метод, определение антител к нескольким индивидуальным антигенам)	10^{-7} - 10^{-9} , то же

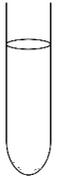
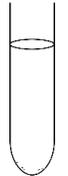
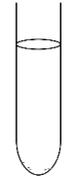
Задание	Результаты																
<p>2. Поставить и учесть ИФА для определения HBs-антигена в донорской сыворотке:</p> <p>а) внести контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки; б) внести конъюгат (анти-HBs-антитела, меченные ферментом) по 50 мкл в каждую лунку; в) инкубировать 1 час при 37° С; г) промыть стрип 5 раз; д) внести хромоген по 100 мкл в каждую лунку; е) инкубировать 30 минут при 37°С; ж) внести стоп-реагент по 50 мкл в каждую лунку; з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты; и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.</p>	 <p>A Отрицательный контроль B Отрицательный контроль C Слабopоложительный контроль D Положительный контроль E Образец 1 F Образец 2 G Образец 3 H Образец 4</p>	<p>Оценка достоверности теста: а) средняя оптическая плотность (ОП) отрицательных контролей (ОПК⁻) должна быть <0,15 ОПК⁻ = _____ б) ОПК- должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК- средняя ОПК⁻ = _____, 0,6 средней ОПК⁻ = _____, 1,4 средней ОПК⁻ = _____ в) средняя ОП положительного контроля (ОПК⁺) должна превышать среднюю ОПК⁻ более чем в 4 раза: ОПК⁺ / средняя ОПК⁻ = _____ г) значение ОП слабopоложительного контроля должно превышать уровень cut-off (ОП критической) Расчет уровня cut-off: ОП cut-off = средняя ОПК⁻ + 0,04</p>															
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Номер образца</th> <th style="width: 30%;">ОП образца</th> <th style="width: 40%;">Заключение</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Образец 1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Образец 2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Образец 3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Образец 4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Номер образца	ОП образца	Заключение	Образец 1			Образец 2			Образец 3			Образец 4			
Номер образца	ОП образца	Заключение															
Образец 1																	
Образец 2																	
Образец 3																	
Образец 4																	
<p>Упрощенная схема постановки ИФА* для диагностики гепатита В (тест-система D-0556 для обнаружения HBs-Ag, ВЕКТОР-БЕСТ, РФ)</p>																	
<p>А. Приготовление растворов</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Промывочный раствор: 1 мл концентрата ФСБ-Т (фосфатно-солевой буфер с твином) +24 мл дист. воды. 2. Слабopоложительный контроль: к содержимому пробирки добавить 500 мкл дист.воды, перемешать 5 мин. 3. Раствор конъюгата: 50 мкл конъюгата развести в 500 мкл буфера для разведения конъюгата. 4. Раствор хромогена: 50 мкл концентрата ТМБ (тетраметил-бензидин) развести в 1 мл ЦФР (цитратно-фосфатный буфер с перекисью водорода). <p>Б. Проведение ИФА</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Вынуть из упаковки 1 стрип (полоска с 8 лунками) и установить в рамку-держатель. 2. Внести в лунки стрипа контроли и образцы по 100 мкл согласно схеме. 3. Внести во все лунки по 50 мкл раствора конъюгата 4. Заклеить стрип пленкой и инкубировать при 37о С 2 часа. 5. Удалить содержимое лунок в емкость с дезинфектантом (6% перекись водорода). 6. Промыть лунки стрипа 5 раз промывочным раствором (полностью заполнить каждую лунку раствором (300 мкл), выдержать 30 секунд, стряхнуть содержимое, постучать опрокинутым стрипом по фильтровальной бумаге для полного удаления раствора). 7. Промыть 1 раз дист.водой и высушить на воздухе 5 минут. 8. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора хромогена. 9. Инкубировать в темном месте при 20-25о С (комнатная температура) 25 минут. 10. Остановить реакцию добавлением 50 мкл стоп-реагента. <p>В. Регистрация результатов</p> <p>Результаты учесть на планшетном фотометре (ИФА-ридере). Длина волны основного фильтра = 450 нм; референс-фильтра = 620-650 нм.</p>	<p>Г. Верность анализа и критическое значение оптической плотности</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Оптическая плотность (ОП) отр.контроля (К-) <0,15 2. Значения ОП К- должны находиться в пределах 0,6хСредняя ОП К- – 1,4хСредняя ОП К- 3. Среднее значение ОП К+ > 4хСредняя ОП К- 4. Критическое значение ОП = Средняя ОП К- + 0,04 5. ОП слабopоложительного контроля > критическое значение ОП. <p>Д. Пример расчета показателей верности анализа и критической ОП</p> <p>1. Данные анализа: ОП К-: 0,070; 0,060; Средняя ОП К- = 0,065 ОП К+: 1,8; ОП слабopоложительного контроля = 0,165</p> <p>2. Показатели верности ОП К- <0,15 ОП К- лежит в пределах 0,6х0,065 = 0,039 – 1,4х0,065 = 0,091 ОП К+/ОП К- = 1,8/0,065 = 27,7 >4 ОП слабopоложительного контроля 0,165 > критического значения ОП 0,105</p> <p>3. Критическое значение ОП ОП крит. = 0,065 +0,04 = 0,105</p> <p>Е. Интерпретация данных анализа</p> <p>Отрицательными (не содержащими HBs-Ag) считаются образцы, ОП которых меньше критического значения ОП. Положительными (содержащими HBs-Ag) считаются образцы, ОП которых равна или превышает критическое значение ОП. Такие образцы следует тестировать повторно и подтверждать специфичность реакции в тесте с блокирующей (анти-HBs-сывороткой).</p>																

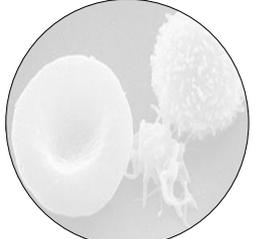
Подпись преподавателя _____

Занятие № 15. Аллергия. Методы диагностики. Иммунопрофилактика. Методы оценки поствакцинального иммунитета

<p>Перечень изучаемых вопросов: Аллергия, стадии, типы аллергических реакций. Механизмы ГНТ: медиаторный (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип). Механизмы ГЗТ (IV тип). Лекарственная аллергия. Методы диагностики аллергических состояний. Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Первичный и вторичный иммунный ответ. Бустерная реакция. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, применение. СНИП «Санитарно-эпидемиологические требования к транспортировке, хранению и использованию иммунобиологических лекарственных средств, проведению профилактических прививок, выявлению, регистрации и расследованию побочных реакций после профилактических прививок».</p>	<p>Источники: - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [7], [17], [18], [19], [20], [21]</p>										
	<table border="1"> <tr> <th>Опрос</th> <th>Работа</th> <th>Тест</th> <th>Самостоятельная работа</th> <th>Итог</th> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог					
Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог							

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты										
1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу.	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КС	КА	Заключение:			
											
2. Постановка и учёт РПГА для оценки поствакцинального иммунитета к дифтерии	Реагенты	Схема постановки							контроль		Постановка а) расставить и пронумеровать агглютинационные пробирки/планшет б) раскатать физраствор в) внести сыворотку пациента в первую, вторую и восьмую пробирки/лунки. Далее перемешать содержимое второй пробирки/лунки и перенести 0,1 мл содержимого в следующую, каждый раз меняя пипетку (наконечник дозатора). Из шестой пробирки/лунки после перемешивания удалить 0,1 мл жидкости; г) внести по 0,1 мл стандартного диагностикума в каждую пробирку/лунку; д) энергично встряхнуть и поместить в термостат при 24° С на 2 часа; е) произвести учёт результатов.
		1 (1/10)	2 (1/20)	3 (1/40)	4 (1/80)	5 (1/160)	6 (1/320)	7 (1/640)	КС	КА	
	Физ. раствор		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	
	Сыв. б-го	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	
	Диагностикум	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1	
	Инкубация 2 часа при 24°С (до оседания эритроцитов)										
учет											
Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе: ++++ агглютинированные эритроциты равномерно покрывают дно пробирки в виде бахромчатого «зонтика», скопление эритроцитов в центре пробирки отсутствует (при чрезмерной агглютинации края «зонтика» могут заворачиваться к центру, симулируя отрицательную реакцию);	+++	+++	++	+	-	выраженный «зонтик», незначительное скопление эритроцитов в центре пробирки; слабовыраженный «зонтик», много эритроцитов в центре пробирки; незначительные элементы агглютинации, выраженный осадок эритроцитов; отсутствие агглютинации, плотный осадок эритроцитов в центральной зоне пробирки («пуговица»).					

<p>3. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - реакция дегрануляции тучных клеток. 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 
--	---

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию

НОВЫЕ ВИДЫ ВАКЦИН

<p>Векторные</p> <p>Состоят из двух компонентов:</p> <p>А. Ген консервативного белка патогена, способного индуцировать протективный иммунный ответ</p> <p>Б. Собственно вектор: непатогенный (в идеале) микроорганизм, обеспечивающий продукцию и доставку нужного антигена в определённый компартмент организма, достаточно длительную персистенцию антигена и управляемое микроокружение для развития нужного типа иммунного ответа. В качестве перспективных векторов предложены:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 конструкторы 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. <p>Антиидиотипические:</p> <p>Представляют молекулы иммуноглобулинов, выработанные в ответ на антитела, специфичные к антигенам возбудителя. Позволяют преодолеть некоторые проблемы вакцинологии:</p> <ul style="list-style-type: none"> - токсичность некоторых вакцинных антигенов (коклюшная вакцина) - сложность или опасность производства антигенов возбудителя; - низкую иммуногенность полисахаридных и липидных антигенов некоторых возбудителей; - отсутствие иммунологической памяти при иммунизации указанными антигенами. 	<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 микrogramм ДНК потенциально может содержать тысячу различных генов, кодирующих протективные антигены микроорганизмов.</p> <p>Преимущества ДНК-иммунизации</p> <ol style="list-style-type: none"> 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). <p>Возможные проблемы</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Интеграция в геном хозяина и индукция соматических мутаций
--	--

	2. Возникновение аутоиммунных реакций (появление анти-ДНК-антител) 3. Индукция иммунологической толерантности к конкретным антигенам.
--	--

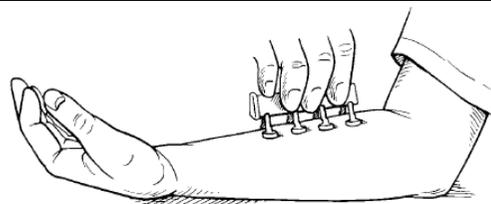
СЕРОТЕРАПИЯ. АНТИСЫВОРОТКИ И ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

По направленности

Противоинокционные: <ul style="list-style-type: none"> • Антитоксические • антимикробные • Антивирусные 	Для лечения неинфекционных заболеваний: <ul style="list-style-type: none"> • Антитоксические (против яда змей) • Антилимфоцитарные • Антицитокиновые
---	--

По происхождению

Ксеногенные: <ul style="list-style-type: none"> • сыворотки лошадиные: противодифтерийная, противогангренозная, противоботулиническая (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), антицитокиновые и др. • гибридные антитела (мышинные F(ab)+человеческие Fc фрагменты): • 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 хоуминга (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; применяют 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)
--	--



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

Некоторые тесты для диагностики аллергии медиаторного типа

Тесты in vivo		Тесты in vitro	
Кожные пробы		Определение общего IgE сыворотки	
Прик-тесты		Определение специфического IgE сыворотки	
Провокационные тесты		CAST	

ВОПРОСНИК ДЛЯ СБОРА АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОГО АНАМНЕЗА (СОКРАЩЕННЫЙ)

Ф.И.О. _____ год рож-я _____

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)

Раздражительно 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. факторов _____.

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 матрас, 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 т.д.), 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 _____.

АЛЛЕРГИЯ (заполните таблицу)

	_____ тип ГНТ	_____ тип ГНТ	_____ тип ГНТ	ГЗТ
Сенсибилизация	Аллерген:	Аллерген:	Аллерген:	Аллерген:
	иммунный ответ	иммунный ответ	иммунный ответ	иммунный ответ
	Антитела:	Антитела:	Антитела:	Лимфоциты:
Повторный контакт	Образование комплексов между Fc фрагментами иммуноглобулинов и Fc	Связывание паратопов антител с аллергенами на поверхности	Образование иммунных комплексов и их отложение на	

Родственники и родители: болели ли (заполните таблицу)	мать	отец	братья	сестры	другие родственники
Бронхиальная астма					
Сенная лихорадка					
Экзема					
Крапивница					
Вазомоторный ринит					
Мигрень					
Отек Квинке					
Острый суставной ревматизм					
Туберкулез					
Сахарный диабет					
Нервные и психические болезни					

	рецепторами базофилов и тучных клеток	соматических клеток	мембранах, эндотелии, соединительнотканной строме	
	Активация базофилов и тучных клеток			
	Высвобождение медиаторов воспаления и др. биоактивных веществ	Запуск механизмов антителозависимой цитотоксичности	Запуск механизмов антителозависимой клеточной цитотоксичности	Продукция цитокинов КИО и развитие иммунного воспаления
Клинические проявления				
Десенсибилизация				
Методы диагностики				

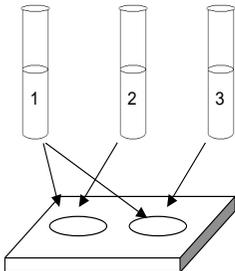
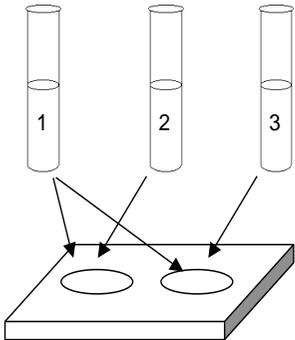
1. Ознакомиться с нормативным документом.
 2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.
 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.
- СНиП «Санитарно-эпидемиологические требования к транспортировке, хранению и использованию иммунобиологических лекарственных средств, проведению профилактических прививок, выявлению, регистрации и расследованию побочных реакций после профилактических прививок»** утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 2 декабря 2013 г. № 114.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 16. Клиническая иммунология. Иммунодефициты. Аутоиммунные болезни

<p>Перечень изучаемых вопросов: Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма, принципы и методы оценки, показатели, интерпретация результатов. Иммунограмма.</p> <p>Первичные и вторичные иммунодефициты.</p> <p>Аутоиммунные болезни. Причины возникновения, проявления. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения.</p> <p>Противоопухолевый иммунитет. Опухолевые антигены. Механизмы ускользания опухолей от иммунного надзора.</p> <p>Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [6], [10], [11], [12], [23] - Практикум [3] - Доп. Литература [7], [17], [18], [19], [20], [21] 				
	Опрос	Работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты	
<p>1. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.</p>		<p>1- эритроцитарный диагностикум ревматоидного фактора 2- сыворотка крови пациента 3- физ. Раствор</p> <p>Эритроцитарный диагностикум - фиксированные эритроциты быка, покрытые IgG человека. Ревматоидный фактор - аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (СКВ, РА) и применяется для диагностики).</p> <p>Заключение:</p>
<p>2. Постановка и учет реакции латекс-агглютинации для обнаружения антител к тиреоглобулину</p>		<p>1- латексный диагностикум антител 2- сыворотка крови пациента 3- физ. Раствор</p> <p>Латексный диагностикум - микросферы латекса, покрытые молекулами тиреоглобулина</p> <p>Заключение:</p>

Подпись преподавателя _____

Занятие № 17. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология»

Перечень вопросов к итоговому занятию:	Устный опрос	Письменная работа	Тест	Практический навык	Итоговая оценка
1. Иммунология, определение, задачи, методы. История развития иммунологии. 2. Иммунная система организма. Характеристика. Органы, иммунокомпетентные клетки. 3. Молекулы иммунной системы – CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, адгезины, молекулы суперсемейства иммуноглобулинов. 4. Цитокины, определение, классификация, биологическая роль, клиническое использование. Хемокины. 5. Иммуитет, определение понятия, виды иммунитета. Факторы неиммунной и иммунной природы врожденного иммунитета, характеристика. 6. Система комплемента, пути активации, функции, значение в противоинфекционной защите. Методы определения активности комплемента, показатели. 7. Фагоцитоз. Фагоциты. Стадии и исходы фагоцитоза (завершённый, незавершённый). Механизмы внутриклеточной бактерицидности. Хемотаксины, опсонины, происхождение и роль в противоинфекционном иммунитете. 8. Методы определения показателей фагоцитоза. 9. Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы. 10. Антигенпрезентирующие клетки, дендритные клетки, функции, роль в индукции иммунного ответа. Естественные киллеры. 11. Иммунный ответ и факторы, определяющие его выраженность. Генетический контроль гуморального и клеточного иммунного ответа. 12. В-лимфоциты, развитие, основные маркёры. В-клеточный-рецептор. Методы определения содержания и функциональной активности В-лимфоцитов. 13. ГИО ответ, этапы. Отличительные черты первичного и вторичного иммунного ответа. 14. Антигены: структура, классификация, характеристика. 15. Антигенная структура бактерий. Групповые, видовые, типовые антигены. Перекрёстнореагирующие антигены. Антигенная формула. 16. Антитела, структурно-функциональная организация молекулы, свойства. Моноклональные антитела, принцип получения, применение. Антиидиотипические антитела. 17. Классы иммуноглобулинов, характеристика. Субклассы, аллотипы, изотипы, идиотипы иммуноглобулинов.	29. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов. 30. Местный иммунитет, значение. Основные компоненты. Аллергия, определение. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций. 31. Аллергены, классификация, характеристика. 32. Медиаторный (I) тип ГНТ, механизм, проявления. Способы предупреждения. 33. Цитотоксический (II) и иммунокомплексный (III) типы ГНТ, механизмы, проявления. 34. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа (ГЗТ), механизм, проявления. 35. Методы диагностики ГНТ (in vivo и in vitro). 36. Методы диагностики ГЗТ (in vivo и in vitro). 37. Иммунологическая толерантность. Определение, механизмы, биологическое значение. 38. Трансплантационный иммунитет. Трансплантационные антигены. Типы трансплантационных реакций. Механизмы отторжения трансплантата. Предупреждение. 39. Противоопухолевый иммунитет. Опухолевые антигены. Механизмы ускользания опухолей от иммунного надзора. 40. Противоинфекционный иммунитет. 41. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы. Расширенная программа иммунизации. 42. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика, методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин. 43. Поствакцинальный иммунитет: факторы, влияющие на его развитие, методы определения напряжённости. Значение коллективного иммунитета, методы его оценки. 44. Пассивная иммунопрофилактика. Показания к проведению. Лечебно-профилактические иммунные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, области применения. 45. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи. Понятие об экологической иммунологии, основные иммунотропные экологические факторы. 46. Иммунный статус организма, принципы и уровни оценки. Методы определения показателей.				

<p>18. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Афинность. Авидность.</p> <p>19. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка. Титр сыворотки, диагностический титр. Диагностикумы, диагностические сыворотки, применение.</p> <p>20. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.</p> <p>21. РПГА, ингредиенты. Методика постановки, учёт, оценка. Применение. Реакция обратной пассивной гемагглютинации. Реакция латексагглютинации.</p> <p>22. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.</p> <p>23. Реакция иммунофлюоресценции, прямой и непрямой методы. Применение.</p> <p>24. ИФА. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Области применения. РИА.</p> <p>25. Реакции иммунного лизиса, применение. РСК. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Применение.</p> <p>26. Клеточный иммунный ответ (КИО), этапы, проявления. Иммунологическая память.</p> <p>27. Т-лимфоциты, развитие, основные маркеры, субпопуляции. Т-клеточный рецептор (ТКР), структура, генетический контроль разнообразия.</p> <p>28. Активация Т-лимфоцитов. Костимуляция. Модель двух сигналов. Анергия. Апоптоз.</p>	<p>Иммунограмма. Влияние условий и образа жизни на функции иммунной системы.</p> <p>47. Иммунодефицитные состояния: врождённые и приобретённые. Структура первичных иммунодефицитов.</p> <p>48. Аутоиммунные болезни, классификация. Аутоантигены. Механизмы аутоиммунитета.</p> <p>49. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммунного ответа, препараты для иммунокоррекции.</p> <p style="text-align: center;">Перечень практических навыков.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Учесть результаты реакции агглютинации. 2. Учесть результаты реакции иммунопреципитации в агаре. 3. Учесть результаты реакции связывания комплемента. 4. Учесть результаты РПГА. 5. Проставить реакцию агглютинации на стекле. 6. Определить концентрацию иммуноглобулинов. 7. Определить количество Т-лимфоцитов в препаратах иммунных розеток. 8. Рассчитать показатели фагоцитоза в готовых препаратах.
---	--

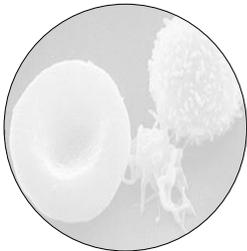
Занятие № 18. Зачет

Перечень вопросов к зачету		
	МИКРОБИОЛОГИЯ	ИММУНОЛОГИЯ
САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА		
КОМПЬЮТЕРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ		
ПРАКТИЧЕСКИЕ НАВЫКИ		

СРЕДНИЙ БАЛЛ		
ПРОПУЩЕНО ЗАНЯТИЙ		
ПРОПУЩЕНО ЛЕКЦИЙ		
РЕЙТИНГ		
ЗАЧЕТ (ненужное зачеркнуть)	«ЗАЧТЕНО»	«НЕ ЗАЧТЕНО»

Занятие № 19 (01). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками. Энтерококки

<p>Перечень изучаемых вопросов: Стафилококки, систематика, общая характеристика. Заболевания стафилококковой природы. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции. Правила забора материала. Схема выделения чистых культур (из гноя, слизи, крови и т.п.). Методы идентификации, фаготипирование стафилококков. Специфическая профилактика и лечение стафилококковых инфекций.</p> <p>Стрептококки. Систематика. Пиогенный стрептококк. Общая характеристика. Антигенная структура. Острые и хронические заболевания, патогенез, иммунитет. Антитела к токсинам и ферментам стрептококка и их диагностическое значение. Пневмококки. Общая характеристика. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Бактериологический метод, схема исследования. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции, правила и методы взятия материала. Принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций.</p> <p>Энтерококки, общая характеристика, роль в патологии человека.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Практическая работа	Самостоятельная работа	Тест	Итог
Лабораторная работа – выполняется одна на двоих.					
Задание	Результаты				
1. 2-й этап бактериологической диагно-				Культуральные признаки	

<p>стики стафилококковой инфекции:</p> <ul style="list-style-type: none"> - макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА; - постановка пробы на плазмокоагулазу. 					Форма																																	
Размер																																						
Поверхность																																						
Край																																						
Цвет																																						
Консистенция																																						
Прозрачность																																						
Лецитиназа																																						
<p>Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>																																						
<p>2. 3-й этап бактериологической диагностики стрептококковых инфекций:</p> <ul style="list-style-type: none"> - описание характера роста в сывороточном бульоне; - определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму; - постановка реакции латексагглютинации для определения серогруппы стрептококка. 					<p>Заключение: по морфологическим, культуральным и серологическим признакам идентифицирован _____</p>																																	
<p>3. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - стафилококк в гное, окраска по Граму; - стрептококк в чистой культуре, окраска по Граму; - пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму; - пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму; - рост стафилококков на ЖСА, кровяном агаре, бульоне; - проба на плазмокоагулазу; - анаэробная ферментация маннита; - фаготипирование стафилококков; - препараты для специфической профилактики 							Препарат _____ Окраска _____ 	Препарат _____ Окраска _____ 	Препарат _____ Окраска _____ 	Препарат _____ Окраска _____ 	<p align="center">Характеристика стафилококков и стрептококков</p> <table border="1"> <tr> <td></td> <td>ние</td> <td>по</td> <td>Кап</td> <td>су-</td> <td>ко-</td> <td>агу</td> <td>та-</td> <td>ла-</td> <td>си-</td> <td>да-</td> <td>ман</td> <td>ни-</td> <td>ДН</td> <td>К-</td> <td>аза</td> <td>пи-</td> <td>ти-</td> <td>ва-</td> <td>про</td> <td>те-</td> <td>Методы диагностики</td> <td>ска</td> <td>я</td> <td>пдо</td> <td>ска</td> <td>ан-</td> <td>ти-</td> <td>ге-</td> <td>ны</td> <td>ник</td> <td>ин</td> </tr> </table>			ние	по	Кап	су-	ко-	агу	та-	ла-	си-	да-	ман	ни-	ДН	К-	аза	пи-	ти-	ва-	про	те-	Методы диагностики	ска	я	пдо	ска
	ние	по	Кап	су-	ко-	агу	та-	ла-	си-	да-	ман	ни-	ДН	К-	аза	пи-	ти-	ва-	про	те-	Методы диагностики	ска	я	пдо	ска	ан-	ти-	ге-	ны	ник	ин							

<p>и лечения стафилококковых инфекций; - рост стрептококков на кровяном агаре и сывоточном бульоне.</p>																			
	S.aureus										бактериоскопия	бактериологический	серологический	аллергологический	Молекулярно-биологический				
	S.epidermidis																		
	S.saprophyticus																		
	S. pyogenes																		
	S. pneumoniae																		
	S.agalactiae																		
	E. faecalis																		

Самостоятельная работа						
Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	Биоэффект, механизм действия	
S.aureus						
S.pyogenes						
S.pneumoniae						

Подпись преподавателя _____

Занятие № 20 (02). Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Диагностика эшерихиозов. Диагностика брюшного тифа, паратифов, сальмонеллезов

<p>Перечень изучаемых вопросов: Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий. Различия между родами. Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды, принципы их работы.</p> <p>Эшерихии, систематическое положение, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Энтеропатогенные, энтеротоксигенные, энтероинвазивные и энтерогеморрагические кишечные палочки. Молекулярные механизмы патогенеза эшерихиозов. Диагностика эшерихиозов. Препараты для антибиотикотерапии.</p> <p>Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Серологическая классификация сальмонелл. Идентификация сальмонелл. Молекулярно-биологическое типирование.</p> <p>Возбудители брюшного тифа и паратифов. Патогенез брюшного тифа. Микробиологические методы исследования при брюшном тифе в зависимости от этапа патогенеза. Фаготипирование и фагоиндикация сальмонелл.</p> <p>Сальмонеллы – возбудители острых гастроэнтеритов. Патогенез и методы диагностики сальмонеллезов.</p> <p>СНП «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения острых кишечных инфекций». СВП «Сальмонеллез».</p>		<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 					
		Опрос	Практическая работа	Самостоятельная работа	Тест	Итог	
Лабораторная работа – выполняется индивидуально.							
Задание		Результаты					
<p>1. 2-й этап бактериологической диагностики эшерихиоза:</p> <p>а) исследование колоний кишечной палочки на средах Эндо и Левина;</p> <p>б) приготовление препаратов из колоний с окраской по Граму;</p> <p>в) постановка реакции агглютинации на стекле со смесью поливалентных ОК-сывороток.</p>					Культуральные признаки	Эндо среда	Левина среда
<p>Заключение: _____</p>					Форма		
					Размер		
					Поверхность		
					Край		
					Цвет		
					Консистенция		
					Прозрачность		
лактоза							

<p>2. 2-й этап выделения копрокультуры при диагностике брюшного тифа и паратифов:</p> <ul style="list-style-type: none"> - описание колоний на среде Левина; - микроскопия препарата с окраской по Граму; - отсев на среду Клиглера. <p>3. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - морфология эшерихий, сальмонелл, шигелл (окраска по Граму); - чистые среды: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Рапопорт, магниевая, селенитовая среда, среда Клиглера; - эти же среды с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл; - биохимическая активность эшерихий; - развернутая реакция агглютинации с живой и убитой культурами эшерихий; - биохимическая активность сальмонелл; - дендрограммы молекулярного типирования сальмонелл. 			<table border="1"> <thead> <tr> <th>Культуральные признаки</th> <th>Левина среда</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td></tr> <tr><td>лактоза</td><td></td></tr> </tbody> </table>	Культуральные признаки	Левина среда	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		Прозрачность		лактоза	
	Культуральные признаки	Левина среда																			
Форма																					
Размер																					
Поверхность																					
Край																					
Цвет																					
Консистенция																					
Прозрачность																					
лактоза																					
	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 																		
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию																					
Роды семейства <i>Enterobacteriaceae</i>, имеющие медицинское значение		Биологические свойства <i>E. coli</i> - представителя нормальной микрофлоры																			
		положительные	отрицательные																		

Методы диагностики брюшного тифа и паратифов в зависимости от периода болезни и стадии патогенеза																									
Период / стадия болезни		Культуральный метод											Серологический метод												
		гемокультура		уринокультура		копрокультура		холекультура			РА по Видалю			РПГА с V-антигеном											
Инкубационный период																									
Продромальный период																									
Разгар болезни	Бактериемия и интоксикация																								
	Паренхиматозная диффузия																								
	Аллергически-выделительная																								
Реконвалесценция																									
Бактерионосительство																									
Характеристика некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae																									
	Морфология, окрасивание по Граму зарисовать	Капсула	Подвижность	Спорообразование	Кислотоустойчивость	Каталаза	Оксидаза	H ₂ S	Трипрофаназа	Глюкоза с газом	маннит	мальтоза	сахароза	Антигены				Методы диагностики							
														O	H	K	Vi	бактериоскопия	бактериологический	серологический	аллергологический	Молекулярно-биологический	Специфическая профилактика	Специфическая терапия	Источник инфекции
<i>E. coli</i>																									
<i>S. Typhi</i>																									
<i>S. Paratyphi</i>																									
<i>S. Schottmuelleri</i>																									
<i>S. Typhimurium</i>																									
<i>S. Enteritidis</i>																									
<i>S. Choleraesuis</i>																									
<i>S. sonnei</i>																									
<i>S. flexneri</i>																									
<i>S. boydii</i>																									
<i>S. dysenteriae</i>																									

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	Биоэффект, механизм действия	
<i>Escherichia spp.</i>						
<i>Salmonella spp.</i>						
<i>Shigella spp.</i>						

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила **«Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения острых кишечных инфекций»**, утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29 марта 2012 г. № 31.

Санитарные и ветеринарные правила **«Сальмонеллез»**, утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 14 марта 2003 г. № 33/11.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 21 (03). Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями. Диагностика дизентерии. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов, дизентерии

<p>Перечень изучаемых вопросов: Шигеллы. Возбудители дизентерии, классификация, общая характеристика. Молекулярные механизмы патогенеза, иммунитет, методы лабораторной диагностики острой и хронической дизентерии. Подходы к профилактике дизентерии. Антибиотикотерапия.</p> <p>Характеристика иммунитета при брюшном тифе, паратифах. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Постановка и анализ реакции Видяля. Методы отличия диагностической реакции от анамнестической и прививочной.</p> <p>Диагностика бактерионосительства при брюшном тифе.</p> <p>СНП «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения брюшного тифа и паратифов».</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Практическая работа	Самостоятельная работа	Тест	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты
<p>1. 3-й этап бактериологической диагностики брюшного тифа и паратифов:</p> <ul style="list-style-type: none"> – исследование роста на среде Клиглера; – определение чистоты культуры, окраска по Граму; – учёт пробы на подвижность и индолообразование; – определение антигенной структуры выделенного микроба в РА на стекле с монорецепторными сыворотками. 	 <p>Закключение: _____</p>

2. Провест учёт реакции Видалья (диагностический титр 1:200), и дать заключение.

3. Ознакомление с демонстрационными материалами:

- рост шигелл и сальмонелл на средах Левина и Плоскирева;
- проба на фаголизис сальмонелл;
- препараты для специфической профилактики брюшного тифа и паратифов.

Реакция агглютинации по Видалю							
	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	КА	КС
O9							
Hd							
A(OH)							
B(OH)							
Заключение:							

Динамика титров АТ при брюшном тифе

Впишите в ячейки класс иммуноглобулинов и антиген, который вызвал их продукцию

Инкубационный, продромальный периоды	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	5 неделя	6 неделя	7 неделя	8 неделя
Фазы патогенеза								
Лимфаденит	Бактериemia с интоксикацией		Паренхиматозная диффузия				Исход: Выздоровление; Летальный; Бактерионосительство	
	Аллергически выделительная							

4. Учет реакции РПГА с целью диагностики носительства (брюшной тиф). Диагностический титр 1/40.

РПГА (Vi-гемагглютинация)									
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640		КС	КА
Заключение:									

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения брюшного тифа и паратифов**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 31 мая 2012 г. № 53.

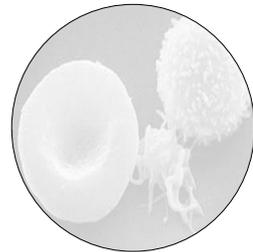
Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения сальмонеллезных инфекций**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 31 июля 2013 г. № 68.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 22 (04). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями, кампилобактериями, псевдомонадами

<p>Перечень изучаемых вопросов: Клебсиеллы, классификация и общая характеристика, вызываемые заболевания. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики острых и хронических клебсиеллёзов.</p> <p>Возбудитель кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики. СПВП «Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Иерсиниозы».</p> <p>Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики синегнойной инфекции.</p> <p>Кампилобактерии, общая характеристика, роль в патологии человека. Механизмы патогенеза. Диагностика кампилобактериоза. Хеликобактер. СВП «Кампилобактериоз».</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Практическая работа	Самостоятельная работа	Тест	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты
<p>1. Микробиологическая диагностика клебсиеллёзов:</p> <p>А. Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Ресселя.</p> <p>Б. Определить наличие капсулы.</p> <p>В. Произвести учет биохимических свойств клебсиелл.</p> <p>Г. Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.</p> <p>Д. Произвести учет РСК для серологической диагностики склеромы.</p>	<p>Закключение:</p> 

Дифференциация клебсиелл			Дифференциальные питательные среды:
Вид	Биохимические признаки	Антигены	1. Модифицированная среда Ресселя содержит глюкозу, лактозу и бромтимоловый синий индикатор

	Глюкоза с газом	лактоза	сахароза	Цитрат аммония	мочевина	Малонат натрия	индол	Рост при 10oC		тор. Клебсиелла склеромы дает пожелтение только столбика, клебсиелла пневмонии – пожелтение и разрыв всей среды, клебсиелла озены – различные варианты. 2. Среды с лактозой, глюкозой, сахарозой (с индикатором бромтимоловым синим). Исходный цвет сред – зеленый (оливковый). При ферментации углевода – желтый цвет. При ферментации до кислоты и газа – желтый цвет среды и пузырек газа в поплавке. 3. Среда Симмонса для изучения утилизации цитрата натрия (индикатор бромтимоловый синий). В положительном случае появляется рост, и среда синее, в отрицательном – роста нет, цвет не изменяется. 4. Среда с малонатом натрия (тот же принцип, что и среда Симмонса). 5. Среда с мочевиной. При гидролизе мочевины (фермент уреазы) происходит защелачивание среды (индикатор Андрее) – красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы – цвет не изменяется (желтый).						
K. pneumoniae s. rhinoscleromatis	-	-	- 4c +	-	-	+	-	-	O2a:K3	Учет РСК по схеме:						
									Вариант	Разведения сыворотки			КС	КА	Оценка	
										1:5	1:10	1:20				
s. ozaenae	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	O2b:K4	1	++++	++++	++++	-	-	Резкоположительная
s. pneumoniae	+	+	+	+	+	+	-	-	O1,3-5:K1-3	2	++++	++++	++++	-	-	Положительная
K. oxitosa	+	+	+	+	+	+	+	+	O1,3-5:K1-82	3	++++	-	-	-	-	Слабоположительная
Выделенная культура										4	-	-	-	-	-	Отрицательная
										Сыв-ка пациента						
										Заключение:						

2. 2-й этап микробиологической диагностики синегнойной инфекции.	Препарат _____ Окраска _____ 	Культуральные признаки	
			Форма
		Размер	
		Поверхность	
		Край	
		Цвет	
		Консистенция	
		Прозрачность	
		Пигментация	
Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____			

Характеристика некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae, Campylobacteriaceae, Helicobacteriaceae, Pseudomonadaceae																																						
	в	а	н	и	с	й	ж	д	р	а	с	т	с	а	л	и	д	н	з	т	р	г	л	м	а	м	а	с	а	Антигены	Методы диагностики	а	я	п	с	к	и	с

<i>Pseudomonas spp.</i>						
<i>Campylobacter spp.</i>						
<i>Helicobacter spp.</i>						

Неферментирующие грамотрицательные бактерии

Неферментирующие бактерии — бактерии, не способные ферментировать глюкозу, оксидазо-положительные, реже — оксидазо-отрицательные. Идентифицируют по цитохромооксидазной реакции, утилизации глюкозы, подвижности, наличию жгутиков, редукции нитрата, продукции пигмента и индола, гидролизу мочевины и эскулина, декарбоксилированию и др.

Способность окислять/ферментировать глюкозу определяют с помощью теста Хью—Лейфсона путем посева в две пробирки со средой, содержащей глюкозу и индикатор ее расщепления: окисление глюкозы учитывают при аэробных условиях роста, а ферментацию — при анаэробных условиях роста, при этом среду заливают сверху стерильным вазелиновым маслом.

Клинически значимые неферментирующие бактерии

<p>1. Подвижные (монотрихи)</p> <p>рРНК-группа I <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i> <i>Pseudomonas alcaligenes</i> <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> <i>Pseudomonas species group 1</i></p> <p>рРНК-группа II <i>Burkholderia mallei</i> (неподвижные) <i>Burkholderia pseudomallei</i>, <i>B. cepacia</i>, <i>B. gladioli</i>, <i>Ralstonia picketti</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> и др.</p> <p>Роды <i>Metylobacterium</i>, <i>Roseomonas</i>, <i>Balneatrix</i></p>	<p>рРНК-группа III <i>Comamonas acidovorans</i> <i>Comamonas terrigena</i>, <i>C. testosteroni</i></p> <p>рРНК-группа IV <i>Brevundimonas diminuta</i> <i>Brevundimonas vesicularis</i></p> <p>рРНК-группа V</p> <p>2. Подвижные (перитрихи)</p> <p><i>Pod Alcaligenes</i> <i>Pod Bordetella</i> <i>Pod Agrobacterium</i> <i>Pod Achromobacter</i> <i>Ochrobactrum anthropi</i> <i>Oligella ureolytica</i> <i>CDC группа Ivc-2</i></p>	<p><i>CDC группа N0-1</i> <i>Bordetella holmesii</i> (CDC группа N0-2)</p> <p>3. Неподвижные, оксидазоположительные</p> <p><i>Pod Ravobacterium</i> <i>Pod Chryseobacterium</i> <i>Pod Empedobacter</i> <i>Pod Weeksella</i> <i>Pod Bergeyella</i> <i>Pod Sphingobacterium</i> <i>Pod Moraxella</i> <i>Oligella urethralis</i> <i>CDC группа EO-2, EO-3, Psychrobacter</i> <i>Палочки Gilardi группа 1</i></p> <p>4. Неподвижные, оксидазоотрицательные</p> <p><i>Pod Acinetobacter</i></p>
--	--	---

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
 2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.
- Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения кампилобактериоза**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 14 августа 2013 г. № 73.

Санитарные и ветеринарные правила «**Кампилобактериоз**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Минсельхозпрода Республики Беларусь от 14 марта 2003 г. № 34/12.

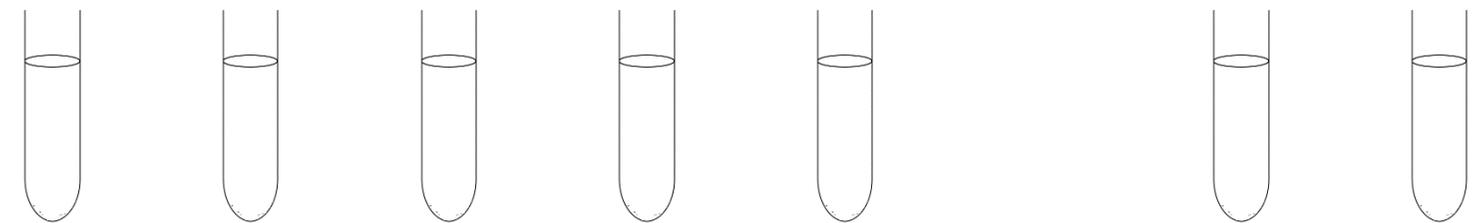
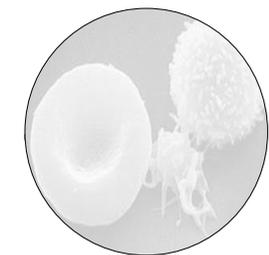
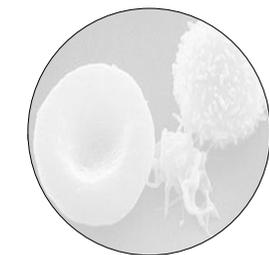
Санитарные правила и Ветеринарные правила «**Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Иерсиниозы**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 декабря 2002 г. № 150/35.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 23 (05). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых нейссериями, бордетеллами, гемофилами, легионеллами, коксииеллами

<p>Перечень изучаемых вопросов: Нейссерии. Систематика, общая характеристика. Факторы патогенности. Дифференциация патогенных и непатогенных нейссерий. Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики и профилактики менингококковой инфекции. Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы микробиологической диагностики острой и хронической гонореи.</p> <p>Бордетелла коклюша. Характеристика возбудителя, факторы патогенности. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.</p> <p>Гемоглинофильные бактерии, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Легионеллы, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Коксииеллы. Ку-лихорадка.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты								
<p>1. Учет РА в пробирках с целью серодиагностики коклюша.</p> <p>2. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>N.gonorrhoeae</i> в гное, окраска по Граму; - <i>N.meningitidis</i>, препарат из ликвора, окраска метиленовым синим; - <i>B.pertussis</i>, чистая культура, окраска по Граму; - <i>H.influenzae</i> чистая культура, окраска по Граму; - <i>L.pneumophila</i> чистая культура, окраска по Граму; - рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу. - препараты для специфической профилактики и лечения коклюша. 	2.	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КС	КА	
		Учет							
	Заключение:	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5			
	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____				
									

Самостоятельная работа к занятию

Характеристика некоторых представителей семейства *Neisseriaceae*, *Alcaligenaceae*, *Pasteurellaceae*, *Legionellaceae*, *Coxiellaceae*

в	а	н	и	е	п	с	у	и	ж	н	р	а	с	т	о	а	л	и	д	н	2	у	р	г	л	с	а	Антигены	Методы диагностики	а	я	п	с	к	и	с
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----------	--------------------	---	---	---	---	---	---	---

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	
					цию 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	
<i>Legionella spp.</i>				Токсин (пептид)	ингибирование «окислительного взрыва» при фагоцитозе	
				Каталаза	инактивация токсических метаболитов при активации макрофагов	
				Факторы неизвестной природы	ингибируют слияние фагосомы и лизосомы, транспорт электронов	
				Термолабильный экзотоксин (цитотоксин и гемолизин)	нарушение функций или лизис клеток	
				Эндотоксин	нарушение функций или лизис клеток	
				фосфатаза, липаза, нуклеаза	разрушение клеток хозяина	
<i>Haemophilus spp.</i>				Полисахаридная (полирибозофосфат) капсула	Угнетение фагоцитоза	
				Пили и другие адгезины	Прикрепление к эпителиальным клеткам	
				Липополисахарид и гликопептид	Повреждение ресничек и поверхности эпителия	
				Протеаза Ig A	Подавление местного иммунитета	
<i>Coxiella spp.</i>						

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные правила и Ветеринарные правила «Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Лихорадка Ку (Коксидиоз)», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 декабря 2002 г. № 153/36.

Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения ХИБ-инфекции», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28 октября 2013 г. № 106.

Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения коклюша», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13 июня 2012 г. № 70.

Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса,

возникновения и распространения менингококковой инфекции», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 12 ноября 2012 г. № 174.

Инструкция о методах микробиологической диагностики менингококковой инфекции и бактериальных менингитов, приказ МЗ РБ от 13 февраля 2006 г. N 81.

Инструкция по лабораторной диагностике гонореи, приказ МЗРБ от 20 мая 2009 года N 485.

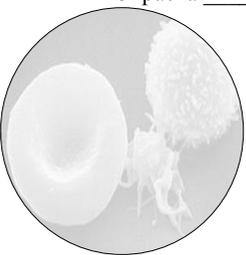
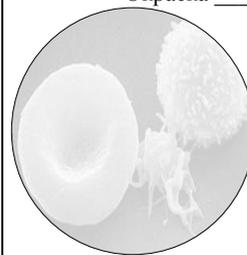
Подпись преподавателя _____

Занятие № 24 (06). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, актиномицетами, микобактериями, листериями

<p>Перечень изучаемых вопросов: Коринебактерии дифтерии. Систематика, общая характеристика возбудителя. Типы коринебактерий дифтерии, их отличительные признаки. Дифтерийный токсин и антитоксическая сыворотка. Патогенез дифтерии. Методы микробиологической и молекулярно-биологической диагностики дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии. Определение эффективности поствакцинального иммунитета (РПГА).</p> <p>Актиномицеты, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. Проба Манту.</p> <p>Возбудитель лепры, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Возбудители микобактериозов. Нокардии.</p> <p>Листерии, общая характеристика, роль в патологии человека. СПИВП «Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Листерииоз».</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итого

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты	Культуральные признаки	
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап: -изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде; - отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахароза, крахмал).</p> <p>2. Бактериологическая диагностика дифтерии, 3-й этап (выполняется на занятии +1): - учет сахаролитической активности; - идентификация.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>	<p>Форма</p>	
			<p>Размер</p>
			<p>Поверхность</p>
			<p>Край</p>
			<p>Цвет</p>
			<p>Консистенция</p>
			<p>Прозрачность</p>
<p>Заключение: _____</p>			

3. Учет РПГА для оценки напряженности анитоксического иммунитета к дифтерии. Диагностический титр 1/40.	РПГА									
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640		КС	КА
										
Заключение:										
4. Микроскопия готовых мазков мокроты пациента туберкулёзом, окраска по Цилю-Нильсену.	Биохимические свойства некоторых коринебактерий									
		Расщепление					цистеина с образованием H ₂ S	мочевины		
		с образованием кислоты								
		глюкозы	сахарозы	крахмала						
	<i>C. diphtheriae gravis</i>	+	-	+	+	-	-			
	<i>C. diphtheriae mitis</i>	+	-	-	+	-	-			
	<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	-	-	-	-	-	+			
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	-	+				
<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+	+				
X-бактерия										
5. Ознакомление с демонстрационными материалами: - <i>C. diphtheriae</i> окраска по Нейссеру; - <i>C. diphtheriae</i> , окраска по Леффлеру; - <i>A. israelii</i> , чистая культура, окраска по Граму; - <i>M. Leprae</i> , окраска по Цилю-Нильсену; - корд-фактор <i>M. tuberculosis</i> , окраска по Цилю-Нильсену; - проба на токсигенность коринебактерий дифтерии; - препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии; - рост микобактерий на питательных средах; - метод флотации; - определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза.	Препарат _____ Окраска _____		Препарат _____ Окраска _____		Препарат _____ Окраска _____					
										
Препарат _____ Окраска _____		Препарат _____ Окраска _____		Препарат _____ Окраска _____						
										

Характеристика некоторых представителей семейства *Corynebacteriaceae*, *Listeriaceae*, *Actinomycetaceae*, *Mycobacterium*, *Nocardia*

	Морфология, окрашивание по Граму зарисовать	Капсула	Подвижность	Спорообразование	Кислотоустойчивость	Каталаза	Оксидаза	H ₂ S	уреаза	Глюкоза с газом			сахароза	Антигены				Методы диагностики									
																		бактериоскопия	бактериологический	серологический	аллергологический	Молекулярно-биологический	Специфическая профилактика	Специфическая терапия	Источник инфекции		
<i>C. diphtheriae</i>																											
<i>L.monocytogenes</i>																											
<i>A.israelii</i>																											
<i>M.tuberculosis</i>																											
<i>M.leprae</i>																											
<i>N.asteroides</i>																											

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	
<i>Corynebacteriaceae spp.</i>				Белковый экзотоксин (состоит из А и В субъединиц)	Нарушение синтеза белка, поражение клеток миокарда, надпочечников, нервных ганглиев	
				Гликолипид (6-б'-дизфир-трегалозы)	Нарушение фагоцитоза	
				Гиалуронидаза	Нарушают проницаемость тканей	
				Нейраминидаза	Нарушают проницаемость тканей	
<i>Listeriaceae spp.</i>				Интерналин – мембранный белок	проникновение листерий в макрофаги и эндотелиоциты, в т.ч. из фагосом в цитоплазму	
				Листеролизин О	гемолизин, обуславливающий разрушение мембраны фаголизосом	
				Фосфолипазы	растворение мембраны и проникновение в клетку (что защищает возбудителя от действия АТ)	
<i>Mycobacterium spp.</i>						

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения дифтерии**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 31 мая 2012 г. № 52.

Санитарные правила и ветеринарные правила «**Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Листерииоз**», утвержденные постановлением Минздрава Республики Беларусь и Минсельхозпрода Республики Беларусь от 31 декабря 2002 г. № 155/38.

Санитарные и Ветеринарно-санитарные правила по профилактике и ликвидации заболеваний, общих для человека и животных. Туберкулез, утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 26 марта 2010 г. № 31/21, с изменениями, утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 15 декабря 2010 г. № 166/91.

Санитарные нормы и правила «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию противотуберкулезных организаций здравоохранения и к проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение распространения туберкулеза в противотуберкулезных организациях здравоохранения», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28 июня 2013 г. № 58.

Подпись преподавателя _____

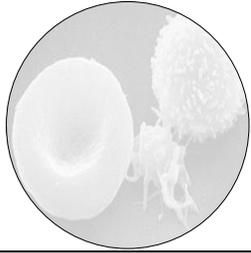
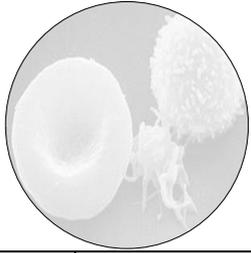
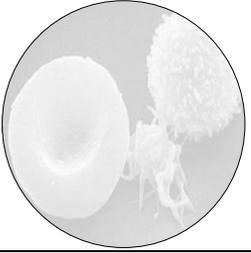
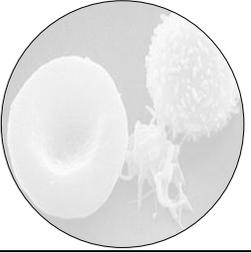
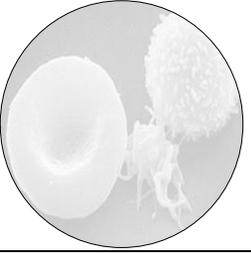
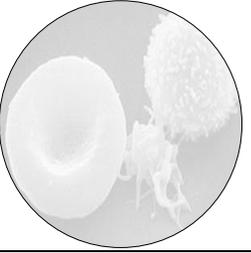
Занятие № 25 (07). Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций

<p>Перечень изучаемых вопросов: Анаэробы, классификация, общая характеристика. Клостридии. Возбудители газовой гангрены, столбняка, ботулизма. Систематика и общая характеристика. Характеристика экзотоксинов. Принципы терапии и профилактики анаэробных инфекций.</p> <p>Клостридиальные гастроэнтериты. Клостридия дифициле, роль в патологии человека.</p> <p>Неспорообразующие анаэробы. Бактероиды. Пептококки. Общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека.</p> <p>Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций. Молекулярно-биологическая диагностика – ПЦР.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Лабораторная работа – выполняется индивидуально.					
Задание	Результаты				

1. Приготовить препарат со среды Китта-Тароцци с посевом шовного материала.

2. Ознакомление с демонстрационными материалами:

- *C.perfringens* в гное, окраска по Граму;
- *P.niger*, чистая культура, окраска метиленовым синим;
- *V.pertussis*, чистая культура, окраска по Граму;
- *P.aerobius* чистая культура, окраска по Граму;
- *V.fragilis* чистая культура, окраска по Граму;
- *F.nucleatum*, чистая культура, окраска по Граму;
- рост анаэробов на средах.

1 Препарат _____ Окраска _____ 	2-1 Препарат _____ Окраска _____ 	2-2 Препарат _____ Окраска _____ 		
2-3 Препарат _____ Окраска _____ 	2-4 Препарат _____ Окраска _____ 	2-5 Препарат _____ Окраска _____ 	2-6 Препарат _____ Окраска _____ 	2-7 Препарат _____ Окраска _____ 

Самостоятельная работа к занятию

Характеристика некоторых представителей семейств

Clostridiaceae, Peptostreptococcaceae, Peptococcaceae, Acidaminococcaceae, Bacteroidaceae, Fusobacteriaceae

	Морфология, окрашивание по Граму зарисовать	Капсула	Подвижность	Спорообразование	Кислотоустойчивость	Каталаза	Оксидаза	H ₂ S	уреаза	Глюкоза с газом			сахароза	Антигены			Методы диагностики				Специфическая профилактика	Специфическая терапия	Источник инфекции						
														О	Н	К	бактериоскопия	бактериологический	серологический	аллергологический				Молекулярно-биологический					
<i>C.botulinum</i>																													

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	
				эпсилон-токсин	усиливает сосудистую проницаемость ЖКТ	
				йота-токсин	Некротизирующая активность и усиление сосудистой проницаемости	
				энтеротоксин	нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника	
				дельта-токсин	гемолиз	
				тета-токсин	гемолиз, цитоллиз	
				каппа-токсин	коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность	
				лямбда-токсин	протеаза	
				мю-токсин	гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей	
				ню-токсин	дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность	
				нейраминидаза	повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, тромбоз в капиллярах	
<i>Bacteroides spp.</i>				эндотоксин	общетоксическое действие	
				лейкоцидин	повреждает лейкоциты	
				коллагеназа	разрушает коллагеновые волокна соединительной ткани - распространение гнойного процесса	
<i>Bacteroides spp.</i>				ДНК-аза, гепариназа	вызывают внутрисосудистые изменения из-за повышенной свертываемости крови	
				фибринолизин	растворяет тромбы	
				бета - лактамаза	разрушает бета-лактамные антибиотики	
				пили	адгезия к субстрату	
				капсула	защищает бактерии от фагоцитоза	
				летучие и жирные кислоты	угнетают хемотаксис и кислородозависимую цитотоксичность лейкоцитов	

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направ-

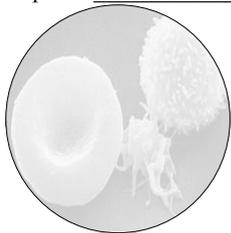
ленных на предупреждение возникновения столбняка», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11 апреля 2012 г. № 35.

Подпись преподавателя _____

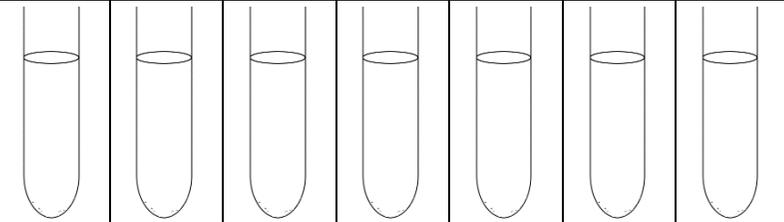
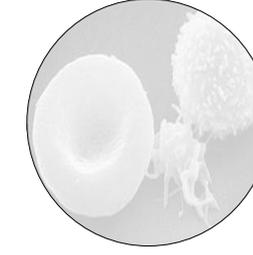
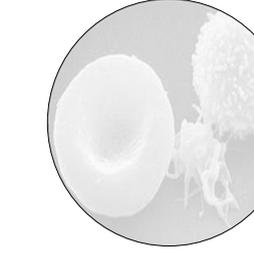
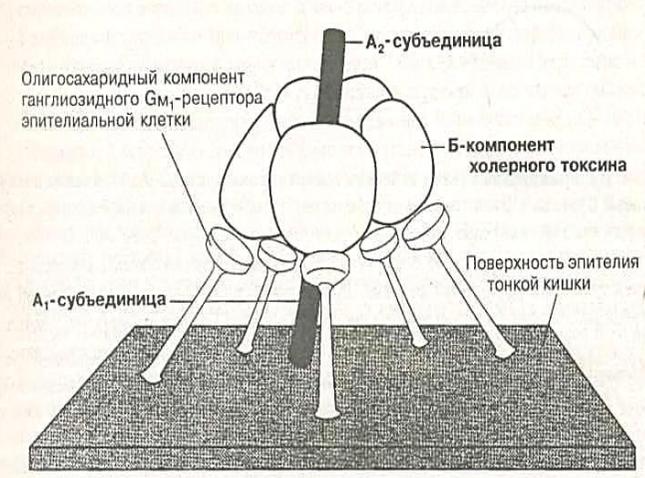
Занятие № 26 (08). Методы микробиологической диагностики чумы, холеры, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы. Санитарная охрана территории Республики Беларусь

<p>Перечень изучаемых вопросов: СП 3.4.17-6-2003 «Санитарная охрана территории Республики Беларусь». СНПиГН «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов 1-4 групп патогенности».</p> <p>Возбудитель чумы, систематическое положение, характеристика, факторы патогенности. Отличия от других иерсиний. Патогенез, принципы терапии и профилактики чумы. СП 3.4./4.2.19-30-2005 «Профилактика заболевания людей чумой. Лабораторная диагностика чумы».</p> <p>Возбудитель холеры, систематическое положение. Классификация и общая характеристика, факторы патогенности. Биовары. Дифференциация холерных и нехолерных вибрионов. Патогенез холеры. Методы микробиологической диагностики. Ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики. СП 3.4.17-13-2003 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой».</p> <p>Возбудители бруцеллеза. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности, патогенез. Микробиологическая диагностика бруцеллеза. Принципы терапии и профилактики. Санитарные и Ветеринарно-санитарные правила «Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Бруцеллез».</p> <p>Возбудитель сибирской язвы. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности. Отличия от непатогенных бацилл. Патогенез. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. Принципы терапии и профилактики. Ветеринарные и Санитарные правила по профилактике и борьбе с сибирской язвой.</p> <p>Возбудитель туляремии, систематика, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики. СНП «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение заноса, возникновения и распространения туляремии».</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание		Результаты			
<p>1. 2-й этап бактериологической диагностики холеры:</p> <ul style="list-style-type: none"> - описать характер роста в щелочной пептонной воде; - описать колонии на щелочном агаре; - приготовить препарат с окраской по Граму и определить морфологию бактерий. 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 	Признак	Среда _____		
		Форма			
		Размер			
		Поверхность			
		Край			
		Цвет			
		Консистенция			
		Прозрачность			
<p>2. 2-й этап бактериологической диагностики сибирской язвы:</p> <ul style="list-style-type: none"> - описать колонии на МПА; - приготовить препарат, окрасить по Граму. 	<p>Препарат _____ Окраска _____</p> 	Признак	Среда _____		
		Форма			
		Размер			
		Поверхность			
		Край			
		Цвет			
		Консистенция			
		Прозрачность			

3. Поставить реакцию агглютинации	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КС	КА	
-----------------------------------	------	-------	-------	-------	-------	----	----	--

<p>Райта с целью серодиагностики бруцеллеза. Схема постановки – см. занятие 13. Провести учет и дать предварительное заключение.</p>								<p>Заключение:</p>
<p>4. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>V. cholerae</i>, чистая культура, окраска по Граму; - <i>Brucella spp</i>, окраска по Граму; - <i>B. anthracis</i> в органах животных, окраска по Граму; - <i>B. anthracis</i>, чистая культура, окраска по Граму; - споры <i>B. anthracis</i>, окраска по Ожешко; - <i>Y. pestis</i> в органах, окраска по Леффлеру; - <i>F. tularensis</i>, чистая культура, окраска по Граму. 	<p>4-1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4-2 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4-3 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4-4 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4-5 Препарат _____ Окраска _____</p> 			
<p>5. Ознакомление с демонстрационными материалами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде; - фаголизабельность холерного классического и Эль-Тор вибрионов. - биохимические свойства холерного вибриона; - подвижность вибриона; - рост сибирезвездных бацилл на МПА; - препараты для иммунопрофилактики и диагностики холеры, чумы, туляремии, бруцеллеза и сибирской язвы. 	<p>4-6 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>4-7 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>Строение холерного экзотоксина (холерогена)</p>  <p>Олигосахаридный компонент ганглиозидного G_{m1}-рецептора эпителиальной клетки</p> <p>А₁-субъединица</p> <p>А₂-субъединица</p> <p>Б-компонент холерного токсина</p> <p>Поверхность эпителия тонкой кишки</p>					

Самостоятельная работа к занятию

Характеристика некоторых представителей семейства

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	
<i>B. anthracis</i>				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, отеchnый фактор – повышение концентрации цАМФ, развитие отеков.	
				Капсула	Антифагоцитарная активность	
<i>F. tularensis</i>				Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы	
				Капсула	Защита от фагоцитоза	
				Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, <i>E. coli</i>)	
<i>Y. pestis</i>				Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген	
				Активатор плазминогена - протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует СЗв 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	

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные правила 3.4.17-6-2003 «**Санитарная охрана территории Республики Беларусь**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 12 мая 2003 г. № 47.

«Ветеринарные и Санитарные правила по профилактике и борьбе с сибирской язвой», утвержденные постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь и Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10 апреля 2003 г. № 20/52, с изменениями, утвержденными постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь и Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 15 декабря 2010 г. № 90/165.

Санитарные правила 3.4.17-13-2003 «**Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 июля 2003 г. № 78.

Санитарные правила 3.4./4.2.19-30-2005 «**Профилактика заболевания людей чумой. Лабораторная диагностика чумы**», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 21 ноября 2005 г. № 180.

Санитарные и Ветеринарно-санитарные правила «**Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Брюцеллез**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 26 марта 2010 г. № 32/20, с изменениями, утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 15 декабря 2010 г. № 166/91.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение заноса, возникновения и распространения туляремии**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30 декабря 2013 г. № 134.

Подпись преподавателя _____

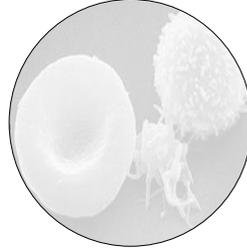
Занятие № 27 (09). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами

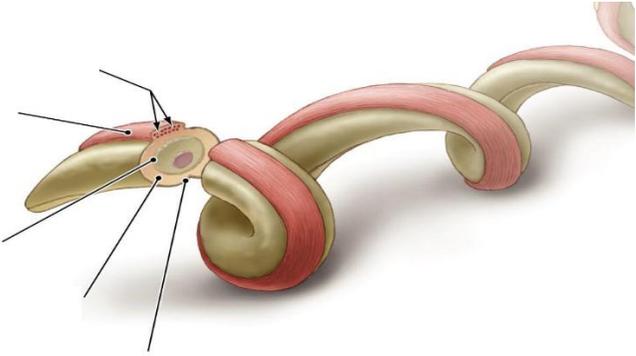
<p>Перечень изучаемых вопросов: Спирохеты, классификация, общая характеристика. Трепонемы. Систематика и общая характеристика. Патогенез и иммунитет при сифилисе. Материал для исследования. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса. Возбудители фузоспирохетозов.</p> <p>Лептоспиры. Систематика и общая характеристика. Патогенез, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики лептоспирозов. СНИП «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения лептоспироза».</p> <p>Боррелии. Систематика и общая характеристика. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики возвратных тифов. Возбудитель болезни Лайма, принципы терапии и профилактики. СНИП «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на профилактику заболеваний, передаваемых иксодовыми клещами».</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты									
<p>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.</p> <p>2. Исследование на <i>Treponema pallidum</i> в темном поле зрения. Зарисовать результат и дать заключение.</p>	<p>Реакция микропреципитации на стекле</p> <p>1. Сыворотка пациента 1:20</p> <p>2. Физ. Раствор</p> <p>3. Антиген кардиолипиновый</p>					<p>Подготовка микроскопа:</p> <ul style="list-style-type: none"> - на верхнюю линзу темнопольного конденсора нанести каплю дистиллированной воды или каплю масла для микроскопии; - поместить препарат на столик микроскопа; - поднять конденсор, избегая образования пузырьков; - включить источник света 				
	<p>Закончить:</p>	<p>Закончить:</p>								
<p>3. Учить РПГА при диагностике болезни Лайма. Диагностический титр 1/80.</p>	<p align="center">РПГА</p>									
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640		КС	КА
										
<p>Закончить:</p>	<p>Закончить:</p>									

4. Зарисовать демонстрационные препараты:	4-1	Препарат _____ Окраска _____	4-2	Препарат _____ Окраска _____	4-3	Препарат _____ Окраска _____	4-4	Препарат _____ Окраска _____
---	-----	---------------------------------	-----	---------------------------------	-----	---------------------------------	-----	---------------------------------

<p>- трепонема в зубном налёте, окраска по Граму;</p> <p>- <i>T. pallidum</i>, чистая культура, окраска по Романовскому-Гимзе;</p> <p>- лептоспиры в тёмном поле;</p> <p>- <i>B. recurentis</i> в крови, окраска по Романовскому-Гимзе.</p>				
---	---	---	---	---

Строение спирохет (схема), вставьте соответствующие номера		Основные признаки патогенных для человека спирохет				
 <p>1 - клеточная стенка 2 - цитоплазматическая мембрана 3 - периплазматическое пространство 4 - осевые нити (периплазматические жгутики) 5 - аксилярный филламент</p>		Признаки		Роды		
		Размер, мкм	Длина	<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
			Толщина	5-20	3-20	7-14
		Количество завитков	8-12	2-8	12-24	
		Форма завитков	Равномерные, правильные	Неравномерные, неправильные	Равномерные, правильные, вторичные завитки	
		Окрасивание по Романовскому-Гимзе	Розовый цвет	Сине-фиолетовый цвет	Розовый, красный цвет	
Форма клетки (нарисуйте)						

ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Для диагностики сифилиса могут быть использованы нетрепонемные (реакция микропреципитации с инактивированной сывороткой - РМП, реакция быстрых плазменных реагинов - RPR) и трепонемные тесты (иммуноферментный анализ - ИФА, реакция непрямой иммунофлюоресценции - РИФ, реакция пассивной гемагглютинации - РПГА).

Клинический диагноз первичного сифилиса подтверждается:

- обнаружением *Treponema pallidum* в нативном препарате;
- и / или положительными результатами одного трепонемного и одного нетрепонемного теста.

Клинический диагноз вторичного и скрытого раннего сифилиса подтверждается:

- положительными результатами одного трепонемного и одного нетрепонемного теста.

Клинический диагноз позднего сифилиса подтверждается:

- положительными результатами не менее чем двух трепонемных тестов.

Клинический диагноз нейросифилиса подтверждается:

- положительными результатами не менее чем двух трепонемных тестов с сывороткой крови;
- результатами комплексной оценки изменений ликвора, с определением степени выраженности показателей воспалительного компонента: морфологический состав (количественный и качественный цитоз), биохимические показатели (общий белок, глобулины/альбумины), расчетные индексы и коэффициенты (альбуминовый коэффициент; IgG-коэффициент; IgG-индекс; РПГА-индекс), а также степени выраженности специфического компонента (нетрепонемный и трепонемный тесты).

Самостоятельная работа к занятию

Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	
<i>Treponema</i>						
<i>Borrelia</i>						
<i>Leptospira</i>						

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на профилактику заболеваний, передаваемых иксодовыми клещами**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 декабря 2012 г. № 192.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения лептоспироза**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 апреля 2014 г. № 27.

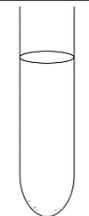
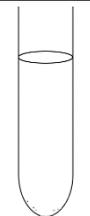
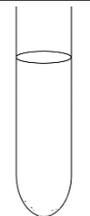
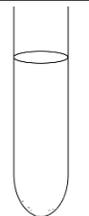
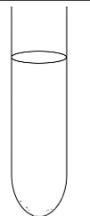
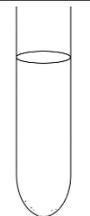
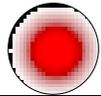
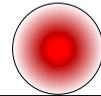
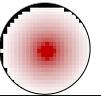
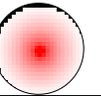
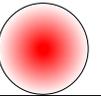
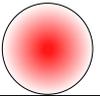
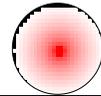
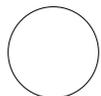
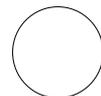
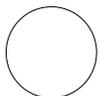
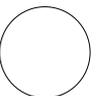
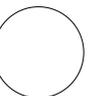
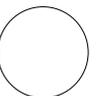
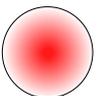
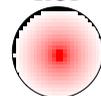
Инструкция по лабораторной диагностике сифилиса, приказ МЗРБ от 20 мая 2009 г. N 488

Подпись преподавателя _____

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

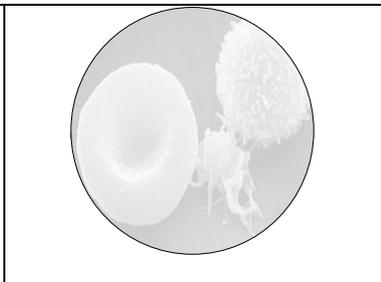
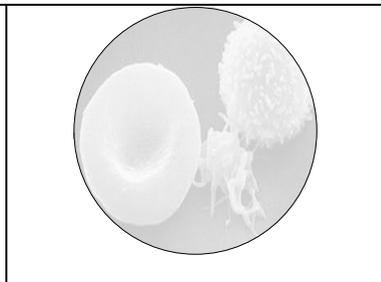
<p>Перечень изучаемых вопросов: Риккетсии, систематическое положение, классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов.</p> <p>Хламидии, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители орнитоза, трахомы, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Методы микробиологической диагностики хламидиозов. ПЦР при хламидиозах.</p> <p>Микоплазмы, общая характеристика, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики микоплазмозов.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [16], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты									
	1. Учет/постановка РСК с целью диагностики сыпного тифа. Схема постановки – см. занятие 14.	РСК	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320			КС
										
	Заключение:									
2. Учет РПГА при дифференциальной диагностике эпидемического и рецидивирующего сыпного тифа.	РПГА									
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640		КС1	КА
										
										
	Заключение:									

4. Зарисовать демонстрационные препараты: - включения хламидий, окраска по Романовскому-Гимзе;	4-1	Препарат _____ Окраска _____	4-2	Препарат _____ Окраска _____		

- *R. prowazekii*, чистая культура, окраска по Граму.



Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

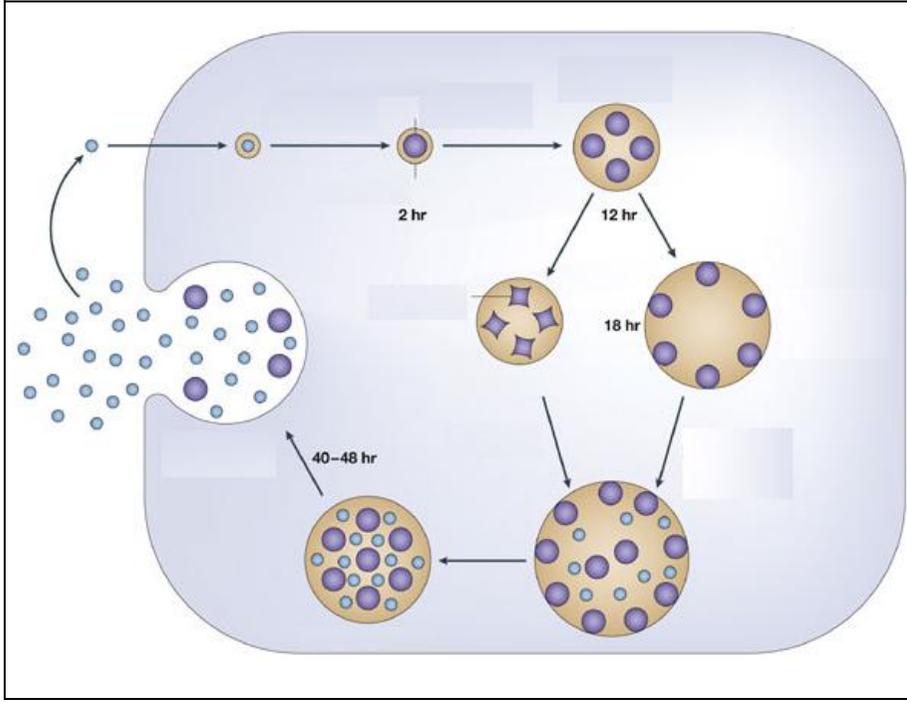
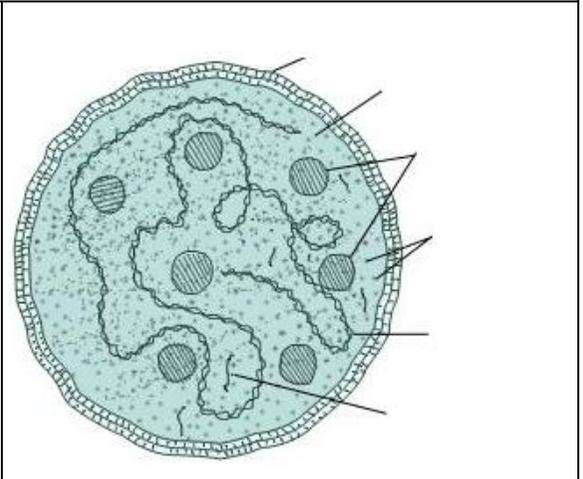


Схема внутриклеточного цикла размножения хламидий

Вставьте соответствующие номера стадий цикла развития хламидий:

- ___ размножение путем бинарного деления
- ___ дифференцировка РТ в ЭТ
- ___ экзоцитоз и лизис клетки хозяина
- ___ прикрепление и эндоцитоз ЭТ
- ___ дифференцировка ЭТ в РТ



Структура клетки микоплазм

Подпишите структуры, отмеченные указательными стрелками.

Самостоятельная работа к занятию						
Возбудители	Вызываемые инфекции	Механизмы и факторы передачи	Материал для исследования	Патогенез		Характеристика иммунитета
				фактор	биоэффект, механизм действия	

<i>Rickettsiaceae</i>						
<i>Chlamydiaceae</i>						
<i>Mycoplasmataceae</i>						

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части бактериологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на профилактику заболева-

ний, передаваемых иксодовыми клещами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 декабря 2012 г. № 192.

Санитарные правила и Ветеринарные правила «Состояние здоровья населения в связи с влиянием микробиологического фактора среды обитания человека. Орнитоз», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 декабря 2002 г. №156/39.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 29 (11). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Частная медицинская микробиология»

Перечень вопросов к итоговому занятию	Устный опрос	Письменная работа	Тест	Практический навык	Итоговая оценка
1. Стафилококки, общая характеристика. Роль в патологии человека. Факторы патогенности и механизмы патогенеза стафилококковых инфекций. Микробиологическая диагностика. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций.					
2. Стрептококки, классификация. Общая характеристика. Факторы патогенности. Антигенная структура. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций.					
3. Классификация нейссерий. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики, профилактика.					
4. Гонококки, общая характеристика. Механизмы патогенеза и иммунитет. Микробиологическая диагностика острой и хронической гонорей.					
5. Общая характеристика семейства энтеробактерий.					
		30. Возбудитель сибирской язвы, характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сибирской язвы.			
		31. Возбудитель туляремии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики туляремии.			
		32. Возбудители бруцеллёза, общая характеристика. Дифференциация видов бруцелл. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики бруцеллеза.			
		33. Семейство спирилл. Кампилобактерии, характеристика, роль в патологии человека. Хеликобактер.			
		34. Классификация и общая характеристика анаэробов. Клостридии. Бактероиды, пептококки и другие неспорообразующие анаэробы. Факторы патогенности. Роль в патологии человека.			

<p>6. Общие принципы бактериологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ). Питательные среды для энтеробактерий. Классификация, принципы работы, применение.</p> <p>7. Материалы для исследования при ОКИ: методы взятия и характер материала в зависимости от клинической формы болезни и этапа патогенеза.</p> <p>8. Общие принципы серологической диагностики ОКИ.</p> <p>9. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями.</p> <p>10. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Серологическая классификация по Кауфману-Уайту. Молекулярно-биологическое типирование.</p> <p>11. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Фаготипирование. Vi-антиген и его значение.</p> <p>12. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов.</p> <p>13. Иммуитет при брюшном тифе. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Специфическая профилактика.</p> <p>14. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.</p> <p>15. Сальмонеллез. Характеристика возбудителей и методы диагностики. Внутрибольничный сальмонеллез.</p> <p>16. Возбудители дизентерии. Классификация. Характеристика. Патогенез, иммунитет к дизентерии. Методы микробиологической диагностики острой и хронической дизентерии.</p> <p>17. Клебсиеллы. Классификация, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики клебсиеллёзов.</p> <p>18. Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности. Роль в патологии человека.</p> <p>19. Возбудители кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез. Методы диагностики иерсиниоза.</p> <p>20. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Отличия от непатогенных коринебактерий. Механизмы патогенеза и микробиологическая диагностика дифтерии.</p> <p>21. Дифтерийный токсин и его свойства. Анатоксин. Иммуитет при дифтерии и его характер. Определение напряженности антитоксического иммуитета. Принципы терапии и профилактики дифтерии.</p> <p>22. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммуитет. Микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.</p> <p>23. Гемофилы, легионеллы. Общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>24. Листерии, коксииеллы. Общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>25. Общая характеристика возбудителей туберкулёза. Патогенез, иммуитет, методы диагностики и специфическая профилактика туберкулёза. Микобактериозы.</p> <p>26. Возбудитель лепры. Характеристика, патогенез, иммуитет.</p> <p>27. Особо опасные инфекции. Режим работы. Правила забора, транспортировки материала и принципы диагностики заболеваний, на которые распространяются мероприятия по санитарной охране территорий РФ.</p> <p>28. Возбудители холеры. Систематика. Общая характеристика. Дифференциация биоваров. Патогенез, иммуитет, принципы терапии и профилактики. Методы микробиологической диагностики.</p> <p>29. Возбудитель чумы, общая характеристика. Патогенез чумы. Иммуитет, принципы терапии и профилактики чумы.</p>	<p>века.</p> <p>35. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез, иммуитет, принципы терапии и профилактики столбняка.</p> <p>36. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.</p> <p>37. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма. Клостридиальные гастроэнтериты.</p> <p>38. Методы диагностики анаэробных инфекций.</p> <p>39. Классификация и общая характеристика спирохет.</p> <p>40. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммуитет, методы диагностики сифилиса.</p> <p>41. Лептоспиры. Общая характеристика. Патогенез лептоспирозов, иммуитет, специфическая профилактика. Микробиологическая диагностика лептоспирозов.</p> <p>42. Боррелии, общая характеристика. Патогенез, иммуитет при возвратном тифе. Микробиологическая диагностика. Возбудитель боррелиоза Лайма.</p> <p>43. Систематическое положение и характеристика риккетсий. Возбудители риккетсиозов. Патогенез, иммуитет, методы диагностики сыпного тифа.</p> <p>44. Характеристика хламидий. Возбудители трахомы, орнитоза, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Механизмы патогенеза и методы диагностики хламидиозов.</p> <p>45. Общая характеристика микоплазм, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы диагностики микоплазмозов.</p> <p style="text-align: center;">Практические навыки:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Определить морфологию стафилококка, чистая культура, окраска по Граму. 2. Определить морфологию стрептококка, чистая культура, окраска по Граму. 3. Определить морфологию гонококка в гное, окраска по Граму. 4. Определить морфологию энтеробактерий, чистая культура, окраска по Граму. 5. Определить морфологию смеси стафилококка и кишечной палочки, окраска по Граму. 6. Определить морфологию бацилл сибирской язвы, чистая культура, окраска по Граму. 7. Определить морфологию вибриона, чистая культура, окраска по Граму. 8. Определить морфологию бруцелл, чистая культура, окраска по Граму. 9. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру. 10. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри. 11. Определить морфологию микобактерий в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену. 12. Определить биохимические свойства культуры на среде Клиглера.
--	---

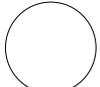
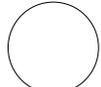
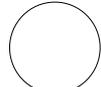
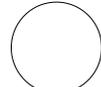
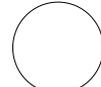
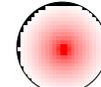
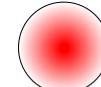
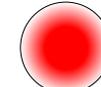
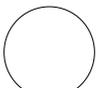
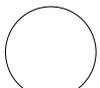
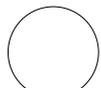
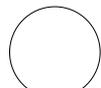
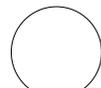
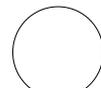
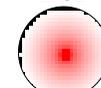
Занятие № 30 (12). Общая вирусология. Методы вирусологических исследований. Бактериофаги

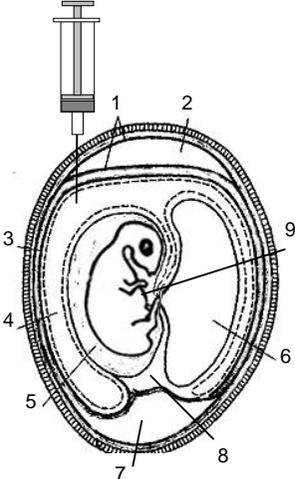
<p>Перечень изучаемых вопросов: Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Механизм репродукции вирусов. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Типы вирусной инфекции. Механизмы противовирусного иммуитета.</p> <p>Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций. Экспресс-методы. Вирусологический метод диагностики.</p> <p>Культивирование вирусов в куриных эмбрионах и организме лабораторных животных. Методы заражения, индикации и идентификации вирусов в них. Культивирование вирусов в культурах клеток. Характеристика культур клеток. Методы индикации и идентификации вирусов.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22] 					
	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <th>Опрос</th> <th>Лабораторная работа</th> <th>Тест</th> <th>Самостоятельная работа</th> <th>Итог</th> </tr> </table>	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог		

Серологический метод диагностики. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА), торможения гемадсорбции, нейтрализации, иммуноферментный анализ (ИФА).
 Молекулярно-биологический метод.
 Вирусы бактерий (бактериофаги). Вирулентные и умеренные бактериофаги. Методы титрования бактериофагов.
 Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика и фаготипирование.

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты										
1. Учет опыта титрования вируса по цветной пробе.	ЦП ключ		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	КК	КВ
											
	pH>=7,2	pH<7,2	Заключение:								

2. Учет РТГА в парных сыворотка для диагностики вирусной инфекции.	РТГА									
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64		КЭ	КС1	КВ
										
								КС2 		
Заключение:										

<p>3. Заражение куриного эмбриона вирусом гриппа в аллантоисную полость.</p>	<p>1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8-11 дней) 2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность: а) по размеру тени эмбриона б) наличию развитого сосудистого рисунка в) активной подвижности эмбриона г) очертить границу воздушного мешка 3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме: а) 70% спирт б) 5% спиртовой раствор йода 4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности: а) фламбировать бранши ножниц б) осторожно пробить скорлупу на 3-5 мм выше границы воздушного мешка в) набрать в одноразовый шприц 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа) г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал. 5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3. 6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).</p>			 <p>1. Подскорлупная оболочка 2. Воздушный мешок 3. Хорион-аллантоисная оболочка 4. Хорион-аллантоисная полость 5. Полость амниона 6. Желточный мешок 7. Белок 8. Экстраэмбриональная полость 9. Эмбрион</p> <p>Схема строения куриного эмбриона</p>
<p>4. Зарисовать демонстрационные препараты: - культура куриных фибробластов, интактная, окраска эозином; - культура клеток Нер-2, интактная; - ЦПД аденовирусов, - реакция гемадсорбции на куриных фибробластах.</p>	<p>3-1 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>3-2 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>3-3 Препарат _____ Окраска _____</p> 	<p>3-4 Препарат _____ Окраска _____</p> 
<p>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.</p>		<p>Вирусные включения. А. Вирусные включения, выявляющиеся при микроскопии зараженных клеток, являются специфическим признаком вирусной инфекции клетки и часто имеют диагностическое значение. Б. Были обнаружены еще Д.И.Ивановским (кристаллы Ивановского – скопления вируса табачной мозаики). В. Обнаруживаются в ядре и/или цитоплазме. Г. По характеру окрашивания бывают базофильными и эозинофильными.</p>		

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.

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

Е. Характерные внутриядерные включения наблюдаются в клетках, зараженных вирусами герпеса, полиомы, ящура, аденовирусами, флавивирусами и др.

Ж. Характерные цитоплазматические включения наблюдаются в клетках, зараженных вирусами оспы, гриппа, кори, бешенства, и др.

Лабораторная диагностика 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 пациента, и получение ответа через несколько часов (быстрая; **экспресс-диагностика**).

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

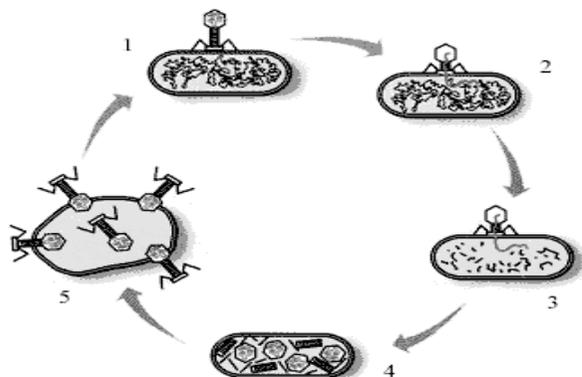
Эта группа методов требует продолжительного времени, трудоемка, часто является ретроспективной. Однако вирусологическая диагностика является необходимой для инфекций, вызванных новыми типами вируса, или когда невозможно провести диагностику другими методами. Выделение вируса из клинического материала осуществляется путем его инокуляции в культуру клеток, куриные эмбрионы или заражения им лабораторных животных.

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

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

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

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



Этапы взаимодействия бактериофага с восприимчивой бактериальной клеткой

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

Подпись преподавателя _____

Занятие № 31 (13). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами

<p>Перечень изучаемых вопросов: Ортомиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирусы гриппа А, В, С. Морфология вириона. Антигенная структура и серотипы. Антигенная изменчивость (дрейф, шифт) и её следствия.</p> <p>Грипп, распространение, патогенез, иммунитет. Методы диагностики гриппа, ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики гриппа, препараты для специфической иммуно- и химиопрофилактики и химиотерапии.</p> <p>Вирус птичьего гриппа, вирус свиного гриппа.</p> <p>Парамиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирусы парагриппа, свойства, роль в патологии человека, дифференциация с вирусами гриппа Патогенез, иммунитет, диагностика.</p> <p>Вирус эпидемического паротита, свойства, патогенез, иммунитет, специфическая профилактика.</p> <p>Вирус кори, строение, свойства. Корь, патогенез, иммунитет, профилактика. Пневмовирус (РСВ), свойства, роль в патологии человека.</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты									
<p>1. Вскрытие куриного эмбриона.</p> <p>2. Индикация вируса путем постановки РГА, выдача заключения.</p>	<p>1. Куриные эмбрионы инкубируют 3-4 суток. Перед вскрытием их на 2-3 ч помешают в холодильник при 4–6° С. При охлаждении кровеносные сосуды сокращаются, что предупреждает кровотечение и возможность адсорбции вирусов на эритроцитах в процессе вскрытия эмбриона и забора материала.</p> <p>2. Скорлупу в месте воздушной камеры обрабатывают 70%-м спиртом, обжигают на пламени, снова обрабатывают спиртовой настойкой йода и опять обжигают.</p> <p>3. Чтобы получить аллантоисную и амниотическую жидкости, скорлупу стерильными ножницами обрезают на 2–3 мм выше границы воздушной камеры. Яйцо слегка наклоняют, удаляют оставшуюся подскорлупную оболочку и пастеровской пипеткой, избегая повреждения сосудов, отбирают 6-10 мл аллантоисной жидкости.</p> <p>4. После этого забирают амниотическую жидкость (0,5-1,5 мл).</p> <p>5. Эмбрион извлекают в чашку Петри. Оставшуюся хорион-аллантоисную оболочку тщательно расправляют и макроскопически исследуют на темном фоне. Отделяют и помещают в отдельную чашку желточный мешок.</p> <p>6. Материал, взятый из куриных эмбрионов, обязательно проверяют на стерильность (присутствие бактерий).</p> <p>7. Как правило, ортомиксовирусы не вызывают видимых повреждений тканей эмбриона. Для быстрого обнаружения гемагглютинирующего вируса в исследуемой эмбриональной жидкости (содержимое аллантоисной и амниотической полостей) ставят реакцию гемагглютинации на стекле.</p> <p align="center">Постановка реакции гемагглютинации</p> <p>На поверхность предметного стекла наносят каплю исследуемой жидкости и каплю 5%-ной взвеси эритроцитов кур и перемешивают. В положительном случае реакция наступает через 3–5 мин. Если в жидкости находится гемагглютинирующий вирус, то при взаимодействии его с эритроцитами образуется агглютинат (происходит агглютинация эритроцитов), а надосадочная жидкость становится прозрачной. Если вирус отсутствует или не обладает гемагглютинирующими свойствами, эритроциты остаются во взвешенном состоянии, жидкость остается мутной.</p> <p>Заключение:</p>									
	<p>3. РТГА для определения серотипа вируса гриппа – провести учет и дать заключение.</p>	<p>Вирус, выделенный у пациента Л</p>	<p>Анти Н₁Н₁</p> 	<p>Анти Н₃Н₂</p> 	<p>Анти Н₅Н₁</p> 	<p>КЭ</p> 	<p>КВ</p> 	<p>К_{анти}С1</p> 	<p>К_{анти}С2</p> 	<p>К_{анти}С3</p> 
	<p>Вирус выделенный у пациента К</p>									
Заключение:										

4. РТГА с парными	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64		КЭ	КС1	КВ
-------------------	-----	-----	-----	------	------	------	--	----	-----	----

сыворотками для серодиагностики гриппа – провести учет и дать заключение.												
Заключение:												

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)

1. Гемагглютинин
2. Нейраминидаза
3. Суперкапсид
4. Матриксный белок М1
5. Белок М2
6. Рибонуклеопротеид
7. Сегментированная, линейная ssRNA(-)

Диагностика гриппа посредством выделения вируса на куриных эмбрионах

1. Забор материала: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на холоду и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пенициллина+стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения.
2. Заражение эмбриона.
3. Инкубация 3-4 дня при 35°С.
4. Вскрытие.
5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса.
6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).

РЕЦЕПТОРЫ ОРТО- И ПАРАМИКСОВИРУСОВ				
вирус	Н	N	F	G
гриппа	+	+	-	-
парагриппа	+	+	+	-
паротита	+	+	+	-
кори	+	-	+	-
респираторно-синцитиальный	-	-	+	+

Примечания: Н – гемагглютинин, N - нейраминидаза, F - белок слияния (образование симпластов, синцития), G – связь с рецепторами клетки.

СЕРОДИАГНОСТИКА ГРИППА

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

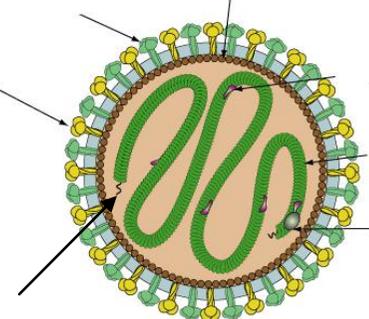
1. Подготовка сывороток (разведение и удаление ингибирующих примесей: пропусканием CO₂, обработкой каолином, нагревание и др.).
2. Подготовка вирусного препарата (определение агглютининового титра).
3. Постановка реакции.
4. Учет.

Учет результатов (на примере РТГА) начинают с контролей. При наличии соответствующих антител в исследуемых сыворотках происходит нейтрализация гемагглютинирующей активности вируса и торможение агглютинации эритроцитов. В первых лунках наблюдают положительную РТГА: эритроциты оседают на дно лунки в виде компактной точки («пуговицы»). В последующих лунках, где имеет место снижение титра антител, отмечают отрицательную РТГА — агглютинация эритроцитов на 1, 2 и 3 плюса. В 1-ом и 2-ом контролях агглютинация должна отсутствовать, а в 3-ем — агглютинация эритроцитов должна быть не менее, чем на 3 плюса. РТГА позволяет не только выявить специфические антитела, но и определить их титр. *Титром антител* в РТГА называют наименьшее их количество, способное полностью блокировать гемагглютинацию. В данном примере титр антител составляет 1:8.

СХЕМА ПОСТАНОВКИ РТГА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА А

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	КС	КЭ	КВ
Физраствор	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Сыворотка пациента	0,1 ^{-0,1}	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	0,1		
Вирус 4ГАЕ	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация 20 мин при комнатной температуре								
1% взвесь куриных эр-цитов	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация 30 - 60 мин при комнатной температуре								
учет	-	-	+	++	+++	-	-	+++

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КОРИ	ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА
--------------------------------------	---

<p>обычно не требуется, поскольку клинические проявления достаточно характерны. Необходима для: диагностики атипичных случаев; диагностики массовых заболеваний; расследования летальных случаев.</p> <p><u>Экспресс методы</u>: выявление антигенов вируса в РИФ, обнаружение характерных многоядерных клеток в окрашенных препаратах. Материалом служат отпечатки слизистой носоглотки, соскобы с элементов сыпи.</p> <p><u>Вирусологический метод</u>: вирус выделяют из крови и носоглоточного смыва (в период prodroma и 1 сутки после появления сыпи). <i>Заражают культуры клеток</i> почек эмбриона человека, Vero и др. Индикация по ЦПД: через 3-4 суток инкубации при 35оС обнаруживают характерное ЦПД – гигантские вакуолизированные многоядерные клетки и синцитий со включениями в цитоплазме; через 7-9 дней появляются внутриядерные включения. Кроме того, наблюдается круглоклеточная дегенерация и образование веретеновидных клеток с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Идентификацию проводят в РИФ, РН и РТГА.</p> <p><u>Серологический метод</u>: ИФА, РНГА в парных сыворотках.</p> <p><u>Молекулярно-биологический метод</u> (ПЦР).</p>	<p>обычно не требуется, поскольку симптоматика достаточно характерна и показательна. Применяется при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - атипичном течении с поражением внутренних органов и желез (панкреатит, тиреоидит, орхит); - при необходимости дифференциальной диагностики с поражениями слюнных желез другого генеза. <p><u>Серологическая диагностика</u>: определяют прирост антител в ИФА (РСК, РТГА).</p> <p><u>Вирусологический метод</u>: исследуют слюну (до 3 дня), ликвор (до 6 дня) и мочу (до 9 дня с момента заболевания):</p> <p><i>а) выделение вирусов паротита на 7-8 дневных куриных эмбрионах.</i> Заражение производят в полость амниона. Эмбрионы инкубируют 6-7 дней при 35о С. Для индикации вируса используют РГА с эритроцитами кур или морских свинок и амниотической жидкостью. Если агглютинирующая активность слабая (отсутствует), проводят пассажи на эмбрионах. В качестве материала используют гомогенат амниотической оболочки. После третьего отрицательного пассажа делают отрицательное заключение;</p> <p><i>б) выделение вируса на культуре клеток.</i> Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, HELA и инкубируют при 35о С. Индикация по ЦПД: через 48-72 часа в культуре появляются гигантские многоядерные клетки и симпласты с цитоплазматическими включениями. Позже наблюдается полное разрушение клеточного монослоя.</p> <p>Для идентификации вирусов, выделенных на эмбрионах и культурах клеток, используют РИФ, РН, РТГАдс, РТГА, РСК.</p> <p><u>Молекулярно-биологический метод</u> (ПЦР).</p>	 <p>1. Гликопротеин F 2. Гликопротеин HN 3. Фосфопротеин 4. Матриксный белок 5. Полимераза L 6. Несегментированная, линейная ssRNA(-) 7. Нуклеопротеин</p> <p>Структура вирусов</p>
---	--	---

<p>Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ознакомиться с нормативным документом. 2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий. 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием. <p>Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения гриппа», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29 декабря 2012 г. № 217.</p> <p>Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения кори и краснухи», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 26 декабря 2013 г. № 130.</p>

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения эпидемического паротита**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30 декабря 2013 г. № 133.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 32 (14). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, вирусами гепатитов

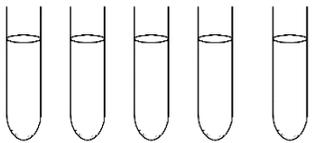
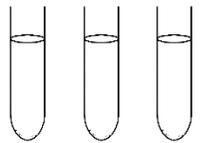
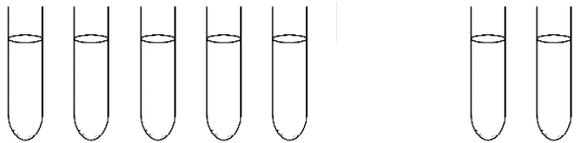
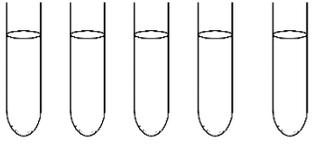
<p>Перечень изучаемых вопросов: Пикорнавирусы. Классификация и характеристика семейства, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, диагностика и иммунопрофилактика полиомиелита. Вирусы Коксаки и ЭКХО, их роль в патологии человека. Дифференциация. Риновирусы. Состав рода. Структура и свойства вирусов. Распространение, патогенез, иммунитет. Ротавирусы, общая характеристика, роль в патологии человека. Вирусы гепатитов А, В, С, D, E. Классификация и общая характеристика, роль в патологии человека. Патогенез и иммунитет гепатитов А, В, С. Методы лабораторной диагностики вирусных гепатитов. Специфическая и неспецифическая профилактика.</p>	<p>Источники: - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22]</p>				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

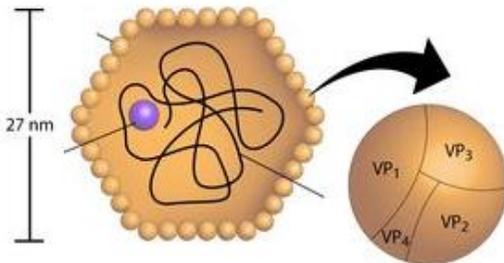
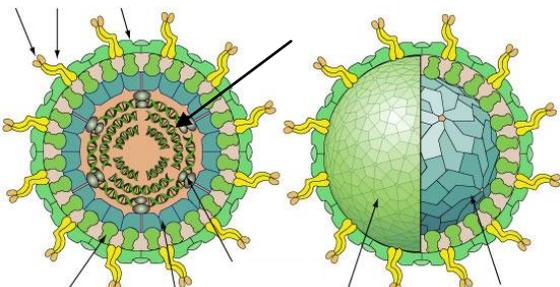
Задание		Результаты																																					
1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С.	а) антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом: в рядах А, Е – core в рядах В, F – NS3 в рядах С, G - NS4 в рядах D, H - NS5 б) раскapatь по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см); в) заклейить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37°C; г) отмыть стрип 5 раз; д) раскapatь 100 мкл конъюгата в каждую лунку;	е) инкубировать в термостате 30 минут при 37°C; ж) промыть стрип 5 раз; з) раскapatь 100 мкл хромогена в каждую лунку; и) инкубировать в термостате 30 минут при 37°C; к) раскapatь по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку; л) учесть результаты на спектрофотометре; м) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований	С- -отрицательный контроль; С+ - положительный контроль; X ₁ - сыворотка пациента К; X ₂ - сыворотка пациента Л; «1», «2» – ряды планшета вертикальные; А-Н - ряды планшета горизонтальные;	<table border="1"> <tr><td>Core</td><td>A</td><td>C-</td><td>X₁</td></tr> <tr><td>NS₃</td><td>B</td><td>C-</td><td>X₁</td></tr> <tr><td>NS₄</td><td>C</td><td>C-</td><td>X₁</td></tr> <tr><td>NS₅</td><td>D</td><td>C-</td><td>X₁</td></tr> <tr><td>Core</td><td>E</td><td>C+</td><td>X₂</td></tr> <tr><td>NS₃</td><td>F</td><td>C+</td><td>X₂</td></tr> <tr><td>NS₄</td><td>G</td><td>C+</td><td>X₂</td></tr> <tr><td>NS₅</td><td>H</td><td>C+</td><td>X₂</td></tr> </table>	Core	A	C-	X ₁	NS ₃	B	C-	X ₁	NS ₄	C	C-	X ₁	NS ₅	D	C-	X ₁	Core	E	C+	X ₂	NS ₃	F	C+	X ₂	NS ₄	G	C+	X ₂	NS ₅	H	C+	X ₂	<table border="1"> <tr><td>1</td><td>2</td></tr> </table>	1	2
					Core	A	C-	X ₁																															
NS ₃	B	C-	X ₁																																				
NS ₄	C	C-	X ₁																																				
NS ₅	D	C-	X ₁																																				
Core	E	C+	X ₂																																				
NS ₃	F	C+	X ₂																																				
NS ₄	G	C+	X ₂																																				
NS ₅	H	C+	X ₂																																				
1	2																																						
КАРТА ПОСТАНОВКИ																																							

Антигены	ряд	ОП контроль	ОП образца	КП	Результат	1. Оценка верности постановки: Среднее значение ОП отрицательного контроля <0,2 Среднее ОП К ⁻ = Среднее значение ОП положительного контроля >0,8 Среднее ОП К ⁺ =	КП(core-Ag) = ОП исслед. сыв (core) / Опкрит (core-Ag) = КП(NS ₃ -Ag) = ОП исслед. сыв (NS ₃) / Опкрит (NS ₃ -Ag) = КП(NS ₄ -Ag) = ОП исслед. сыв (NS ₄) / Опкрит (NS ₄ -Ag) = КП(NS ₅ -Ag) = ОП исслед. сыв (NS ₅) / Опкрит (NS ₅ -Ag) =
Core	A					2. Расчет ОП критической для каждого антигена: ОПкрит (core-Ag) = ОП К- (core) + 0,2 = ОПкрит (NS ₃ -Ag) = ОП К- (NS ₃) + 0,2 = ОПкрит (NS ₄ -Ag) = ОП К- (NS ₄) + 0,2 = ОПкрит (NS ₅ -Ag) = ОП К- (NS ₅) + 0,2 =	4. Интерпретация результатов: а) если КП для каждого антигена менее 1, исследуемый образец считают отрицательным; б) результат следует считать положительным, если КП больше 1 для: core-Ag или любых двух антигенов в) результат следует считать неопределенным, если КП больше 1 только для одного неструктурного белка.
NS ₃	B						
NS ₄	C						
NS ₅	D						
Core	E						
NS ₃	F						
NS ₄	G						
NS ₅	H						

Задание	Результаты
2. Учет реакции нейтрали-	РН ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПОЛИОМИЕЛИТА ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЦД ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА ПО

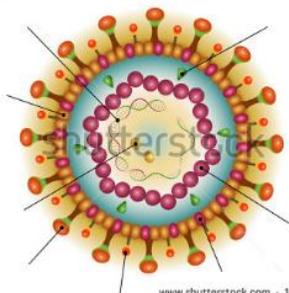
<p>зации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита.</p> <p>3. Учет титрования вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.</p>	<p>Сыворотка 1</p> <p>1/10 1/20 1/40 1/80 1/160</p>  <p>КС₁ КВ КК</p> 	<p>ЦВЕТНОЙ ПРОБЕ</p> <p>ЗаклЮчение:</p> <p>10⁻¹ 10⁻² 10⁻³ 10⁻⁴ 10⁻⁵ 10⁻⁶ КК КВ</p>  <p>Цветная проба. Суть этой реакции заключается в способности вируса подавлять обменные процессы в зараженных клетках культуры ткани. Клеточные суспензии с определенной концентрацией клеток добавляют в пробирки через час после внесения в них смеси вируса с определенными разведениями сыворотки. Цветная проба основана на том, что клетки, размножаясь в незараженных пробирках или пробирках со смесью вируса и нейтрализовавших его антител, образуют много кислых продуктов обмена, которые снижают рН питательной среды. Это легко обнаруживают благодаря включенному в состав среды индикаторному красителю (например, феноловому красному), цвет которого меняется в зависимости от рН среды. Красный цвет при рН 7,4.-7,8 становится оранжевым при рН 7,2, а при снижении рН ниже 7,0 — желтым. При гибели клеток под воздействием вируса не наблюдается выделения достаточного количества кислых продуктов, поэтому среда остается красной. Титр вируснейтрализующих антител определяют, как последнее разведение сыворотки, которое в присутствии добавленного вируса позволило клеткам сохранить нормальные обменные процессы, а следовательно, и снизить рН среды до того же уровня, что и в незараженной контрольной культуре. Обычно цветную пробу используют при работе с энтеро- и аденовирусами.</p>
	<p>Сыворотка 2</p>  <p>КС₂</p> 	
	<p>ЗаклЮчение:</p>	

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

 <p>1. Капсид 2. Несегментированная, линейная ssRNA(+) 3. Кэппирующий белок VPg</p> <p>Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>	 <p>1. Наружный капсид 2. Внутренний капсид, VP2 3. Белок VP5, 4. VP8 5. Белок VP6 6. Белок VP7 7. Сегментированная, линейная dsRNA 8. Полимераза VP1, VP3</p> <p>Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>
---	--

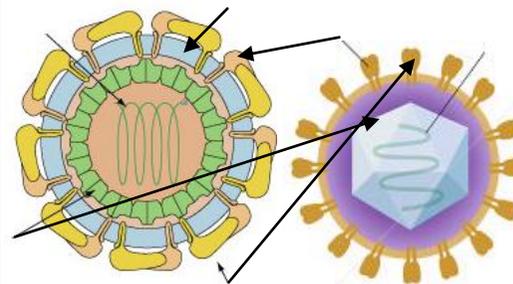
<p>СЕМЕЙСТВО PICORNAVIRIDAE (8 родов, 230 видов) +однонитевая РНК (функция иРНК), простые вирусы (икосаэдр), 20-30 нм</p>	<p>Вирусы ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ЭНТЕРОВИРУСАМИ</p>
--	---

РОД	ВИДЫ	СЕРОТИПЫ, К-ВО СЕРОТИПОВ			
Enterovirus (от греч. enteron - кишка)	Полиовирус человека (Poliovirus)	Полиовирус-1, полиовирус-2, полиовирус-3	3	Полиомиелит	Полиомиелит - острое лихорадочное заболевание, сопровождающееся поражением нейронов серого вещества (греч. polios - серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые атрофические параличи и парезы мышц ног, туловища, рук.
	Энтеровирус А человека (Human enterovirus A)	коксаки А (А2-А8, А10, А12, А14, А16); энтеровирус 71	12		
	Энтеровирус В человека (Human enterovirus B)	коксаки В (В1-В6); коксаки А9; ЕСНО (1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33); энтеровирус 69	36	Коксаки А	Полиорганный тропизм. Герпангина (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырчатка в полости рта и конечностей, серозный менингит, полиомиелитоподобные заболевания. Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей).
	Энтеровирус С человека (Human enterovirus C)	коксаки А (А1, А11, А13, А15, А17-А22, А24)	11		
	Энтеровирус D человека (Human enterovirus D)	Энтеровирусы 68 и 70	2	Коксаки В	Полиорганный тропизм. Более высокая нейротропность, чем у коксаки А. Серозный менингит, энцефалит, миокардит, полиомиелитоподобные заболевания, плевродиния (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит). Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей).
Rhinovirus	риновирусы		> 100		
Hepatovirus	вирус гепатита А		1	ЕКХО	ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобная инфекция
Arphtovirus	вирус ящура		1	Энтеровирус 70	геморрагический конъюнктивит
Cardiovirus	вирус энцефаломиокардита		1	Энтеровирус 71	полимиелитоподобные заболевания



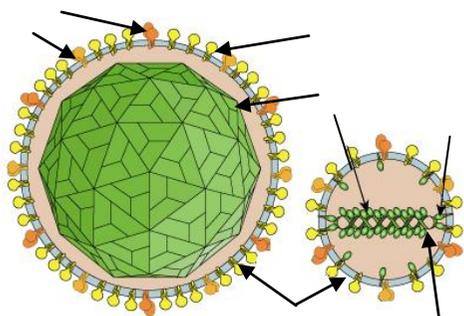
1. М-НВsAg
2. НВeAg
3. НВсAg
4. ДНК-полимераза
5. Неполная, кольцевая dsDNA
6. L-НВsAg
7. S-НВsAg
8. Бислой липидный

Структура _____ **вирусов**
(обозначить цифрами структуры вириона)



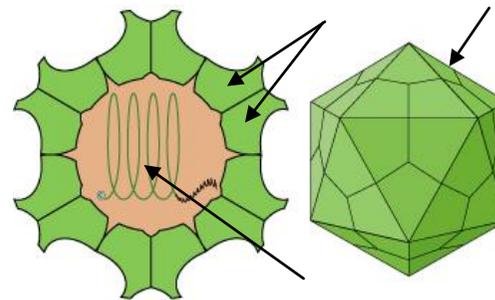
1. Суперкапсид
2. Нуклеокапсид
3. Гликопротеин E1
4. Гликопротеин E2
5. Несегментированная линейная ssRNA(+)

Структура _____ **вирусов**
(обозначить цифрами структуры вириона)



1. Суперкапсид
2. Нуклеокапсид
3. Кольцевая ssRNA(-)
4. L-HDAg
5. S-HDAg
6. L-НВsAg
7. М-НВsAg
8. S-НВsAg

Структура _____ **вирусов**
(обозначить цифрами структуры вириона)



1. Нуклеокапсид
2. Гликопротеины капсида СР
3. Несегментированная линейная ssRNA(+)

Структура _____ **вирусов**
(обозначить цифрами структуры вириона)

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ (заполните таблицу)

Вирус	Семейство – род - вид	Геном	Строение, размер вириона, нм	Механизмы передачи
-------	-----------------------	-------	------------------------------	--------------------

HAV	<i>Picornaviridae – Hepatovirus - Hepatitis A virus</i>			
HBV	<i>Hepadnaviridae – Orthohepadnavirus - Hepatitis B virus</i>			
HCV	<i>Flaviviridae – Hepacivirus - Hepatitis C virus</i>			
HDV	(Семейство не опр.) <i>Deltavirus - Hepatitis delta virus</i>			
HEV	<i>Hepeviridae- Hepevirus - Hepatitis E virus</i>			

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения энтеровирусных инфекций неполиомиелитной природы**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13 марта 2014 г. № 15.

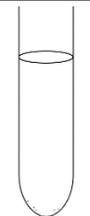
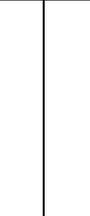
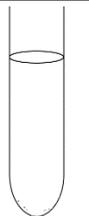
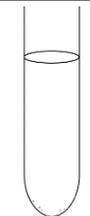
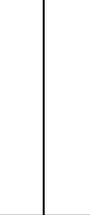
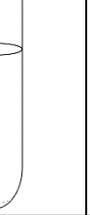
Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения вирусных гепатитов**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 6 февраля 2013 г. № 11.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 33 (15). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых арбовирусами и вирусами с природной очаговостью

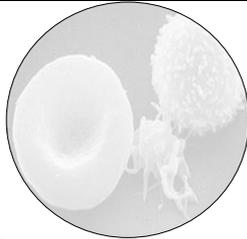
<p>Перечень изучаемых вопросов: Классификация и общие признаки арбовирусов. Тога-, флави-, бунья-, аренавирусы, классификация, структура вирионов, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, методы диагностики клещевого энцефалита. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии человека. Профилактика. Рабдовирусы. Классификация и характеристика рабдовирусов. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика бешенства. Вирусологическая диагностика бешенства. Филовирусы. Вирусы Эбола и Марбург.</p>	<p>Источники: - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22]</p>				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты							
	учет	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС	КА
1. Определение прироста титра антител в парных сыворотках в РСК с целью диагностики клещевого энцефалита. Схема постановки – см. занятие 14. Реакция ставится в двух рядах с первой и второй сыворотками пациента соответственно.	Сыворотка пациента К ₁							
	Сыворотка пациента К ₂							
Заключение:								

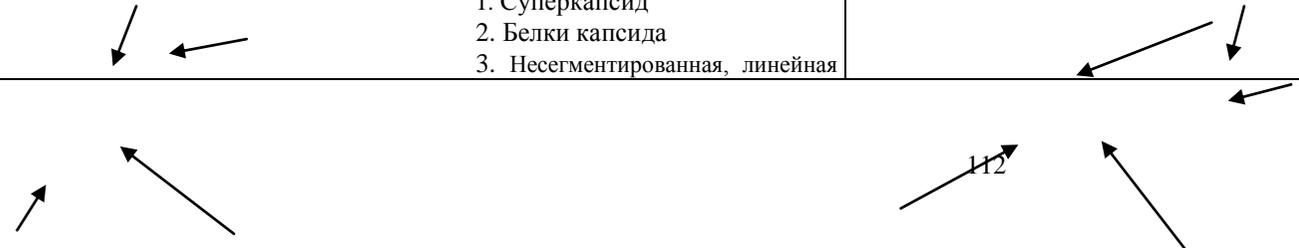
2. Зарисовать демонстрационные препараты:
 - тельца Бабеша-Негри, окраска по Муромцеву.

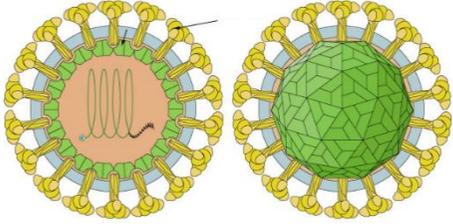
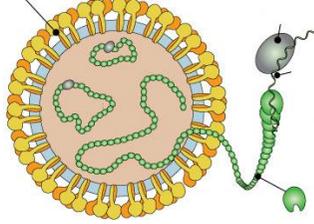
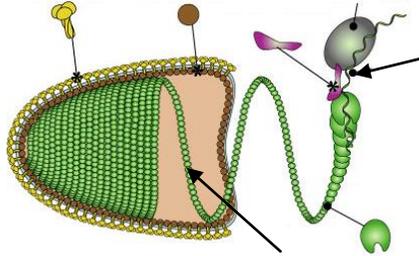
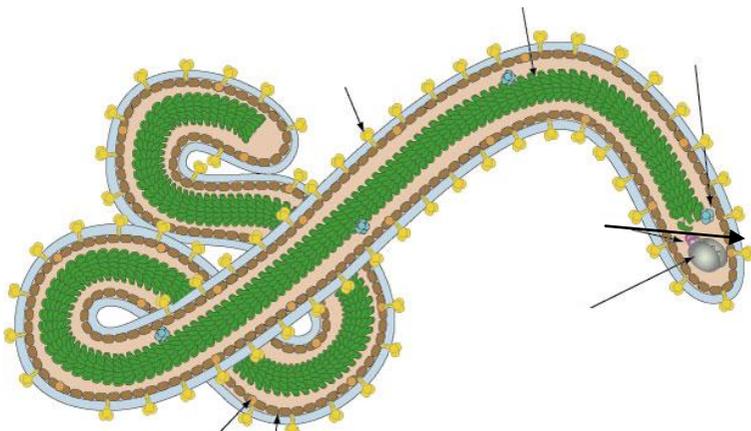
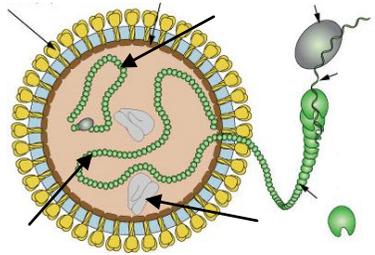
2-1 Препарат _____ Окраска _____



ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

<ul style="list-style-type: none"> 1. Суперкапсид 2. Белки капсида 3. Несегментированная, линейная 	<ul style="list-style-type: none"> 1. Нуклеопротеин 2. Сегментированная, линейная ssRNA(-) 3. Гликопротеины
---	--



 <p>ssRNA(+) 4. Гликопротеины E1-2 Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>	 <p>4. М-РНК 5. S-РНК 6. L-РНК Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>
 <p>1. Рибонуклеопротеин 2. Нуклеопротеин 3. Гликопротеины 4. РНК-полимераза L 5. Матриксный белок 6. Фосфопротеин P 7. Несегментированная, линейная ssRNA(-) Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>	 <p>1. Гликопротеин GP1+GP2 2. Фактор транскрипции VP30 3. М-белок VP24 4. М-белок VP40 5. Кофактор полимеразы VP35 6. Нуклеопротеин NP 7. РНК-полимераза 8. Несегментированная, линейная ssRNA(-) Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>
 <p>1. Матрикс Z 2. Нуклеокапсид 3. Рибосома-подобные частицы 4. L-сегмент РНК 5. S-сегмент РНК 6. Гликопротеины 7. Сегментированная, линейная ssRNA(-) 8. РНК-полимераза Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>	
<p align="center">ДИАГНОСТИКА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА</p> <p>1. Материалом является кровь, ликвор, моча. В случае гибели больных – кусочки мозга, кровь и ликвор. Для ретроспективной диагностики забирают кровь в течение 1 недели болезни и через 5-7 недель после начала заболевания.</p> <p>2. Выделение вируса на мышах. После обработки (гомогенизация, добавление антибиотиков, проверка на стерильность) материал вводят в мозг белым мышам. Через 8-12 дней появляются симптомы (раздражительность, шаткость походки, конвульсии, параличи, гибель). При отсутствии заболевания мышей забивают и гомогенатом мозга заражают других мышей (2-3 пассажа). При отсутствии заболеваний в третьем пассаже делают отрицательное заключение.</p> <p>3. Выделение вируса на культурах клеток. Применяют фибробласты куриного эмбриона и культуры клеток СПЭВ, ВНК21 и др. Вирусы клещевого энцефалита не вызывают ЦПД (индикация проводится заражением мышей в мозг культуральной жидкостью).</p> <p>4. Идентификация вирусов осуществляется в РН на мышах, РТГА или РСК с применением стандартных типоспецифических сывороток.</p> <p>5. Серологическая диагностика проводится в РСК, РНГА или РТГА. РСК ставится со стандартными антигенами, постановка реакции проводится по общепринятой схеме с дополнительными контролями типоспецифической и нормальной сывороток (поставляются вместе с</p>	<p align="center">ДИАГНОСТИКА БЕШЕНСТВА</p> <p>1. Материалом для исследования служит мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Также можно использовать ткань слюнных желез. Для биологической пробы ткань мозга забирают стерильными инструментами в асептических условиях.</p> <p>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):</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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; - 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). - биопроба может выполняться только в случае отрицательных результатов морфологического исследования в специализи-

антигенами).	рованных 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.
--------------	--

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные правила и Ветеринарные правила «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. Бешенство», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 30 мая 2000 г. № 28/10.

Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения кори и краснухи», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 26 декабря 2013 г. № 130.

Подпись преподавателя _____

Занятие № 34 (16). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпес- и аденовирусами

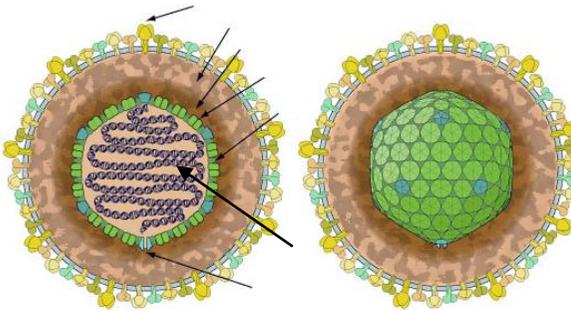
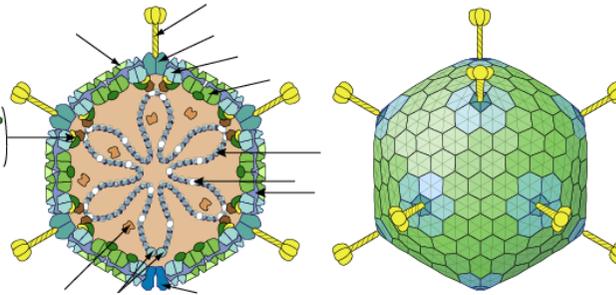
<p>Перечень изучаемых вопросов: Герпесвирусы. Классификация и характеристика семейства. ВПГ-1, ВПГ-2, свойства, роль в патологии человека, патогенез, иммунитет, диагностика, химио- и иммунотерапия. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса, свойства, патогенез, иммунитет, диагностика, профилактика ветряной оспы.</p> <p>Цитомегаловирус, свойства, формы инфекции. Вирус Эпштейна-Барр, свойства, роль в патологии человека. Патогенез, иммунитет, диагностика инфекционного мононуклеоза. Вирусы герпеса человека ВГЧ-6, ВГЧ-7,</p>	<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22] 				
	Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

ВГЧ-8, роль в патологии человека.
 Аденовирусы. Классификация и характеристика семейства. Аденовирусы человека, структура вириона, патогенез, иммунитет, диагностика аденовирусных инфекций.

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	Результаты
1. Зарисовать демонстрационные препараты: - ЦПД аденовирусов.	Препарат _____ Окраска _____ 

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

	<ol style="list-style-type: none"> 1. Суперкапсид 2. Гликопротеины 3. Икосаэдрический капсид 4. Капсомеры 5. Тегумент внутренний 6. Несегментированная, линейная dsDNA 7. Тегумент наружный <p>Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Несегментированная, линейная dsDNA 2. Фибрилла 3. Пентон 4. Белок гексона 5. Пентонный гексон 6. Протеаза 7. Белки VIII, VI, V 8. Белок IX 9. Белок X 10. Белок IIIa 11. Белок IVa <p>Структура _____ вирусов (обозначить цифрами структуры вириона)</p>
--	---	--	--

ДИАГНОСТИКА ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

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

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

ДИАГНОСТИКА ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ

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

- Лучшим материалом для микроскопии вируса является содержимое свежих везикул: при микроскопии обнаруживаются вирусные частицы, выявляются многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями.
- Для быстрой идентификации вируса можно применить РИФ. Специфический антиген обнаруживается внеклеточно в виде ярких зерен и скоплений, а также в одно- или многоядерных клетках.

<ul style="list-style-type: none"> • 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. <p>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.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Вирус выделяют на различных культурах клеток человека. Характерное ЦПД - образование многоядерных гигантских клеток (характерно для эпителиальных клеток) и скопления округлившихся клеток (характерны для фибробластов). Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. При отсутствии ЦПД проводят пассажи на культуре клеток. При отсутствии ЦПД в третьем пассаже результат считают отрицательным. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ. <p>Б) Методы ретроспективной диагностики: антитела обнаруживают в реакции ИФА, РН или РСК в парных сыворотках.</p>
--	---

<p>ДИАГНОСТИКА АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ</p> <p>1. Материалом служат смывы и соскобы (назофарингеальный, конъюнктивальный и др), фекалии, моча, биопсийный и аутопсийный материал.</p> <p>2. Ранние методы диагностики включают обнаружение антигенов или ДНК вируса в материале пациента или экспресс методы выделения и идентификации вируса:</p> <ul style="list-style-type: none"> • обнаружить и идентифицировать вирус можно в РИФ, ИФА или РСК. Антигены аденовирусов выявляются в цитоплазме и ядре пораженной клетки. • выделить вирус можно в различных культурах клеток, однако лучше использовать эпителиальные клетки (НЕК, HELA, А-549). Характерное ЦПД: мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев; образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре; образование цитоплазматических и внутриядерных включений; появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад); • вирус идентифицируют (типировать) в РН, РИФ, РСК; • все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы; • электронная микроскопия имеет ограниченное применение. <p>3. Ретроспективная диагностика (эпидемиологическое значение): антитела выявляют в ИФА, РТГА, РСК, в парных сыворотках.</p>	<p>ДИАГНОСТИКА ВЭБ-ИНФЕКЦИИ</p> <p>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.</p> <p>а) Проба Пауля—Буннелля — стандартный метод лабораторной диагностики инфекционного мононуклеоза. Он заключается в выявлении гетерофильных антител к эритроцитам барана с помощью реакции гемагглютинации. Гетерофильные антитела при инфекционном мононуклеозе отличаются от гетерофильных антител, присутствующих в сыворотке здоровых и больных сывороточной болезнью, по способности абсорбироваться тканью почек морской свинки и эритроцитами быка. Диагностически значимым считается титр 1:128—1:256. Гетерофильные антитела обычно обнаруживают через 3—4 нед. после начала заболевания. Реакция Пауля—Буннелля бывает положительной при лейкозах, вирусных гепатитах, цитомегаловирусной инфекции, лимфоме Беркитта, ревматоидном артрите и после введения иммунных сывороток. Титр антител не отражает тяжести заболевания, однако при измерении в динамике позволяет следить за течением заболевания.</p> <p>б) Экспресс-тест на гетерофильные антитела. Гетерофильные антитела в этом исследовании выявляются при агглютинации стабилизированных формалином эритроцитов лошади.</p> <p>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:</p> <p>а) антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА). На ранней стадии заболевания в сыворотке пациента появляются IgM к капсидному антигену. Их титр становится максимальным через 2 нед после начала заболевания и снижается в течение 2—3 мес. Присутствие IgM к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр свидетельствует о недавнем заражении, а IgG — о ранее перенесенном заболевании.</p> <p>б) антитела к ранним антигенам вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА). Титр этих антител становится максимальным через 2—3 нед после начала заболевания.</p> <p>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.</p>
---	--

<p>Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ознакомиться с нормативным документом. 2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий. 3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием. <p>Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения ветряной оспы», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05 ноября 2012 г. № 172.</p>



Подпись преподавателя _____

Занятие № 35 (17). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами. Онкогенные вирусы. Медленные инфекции

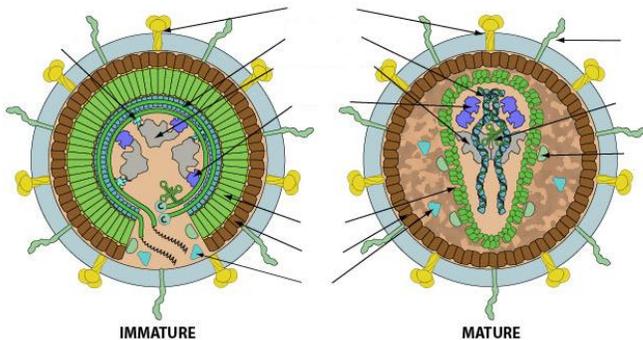
<p>Перечень изучаемых вопросов: Ретровирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2). Морфология вириона. Стадии патогенеза ВИЧ-инфекции, роль CD4+ и CD8+ Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания. Методы диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция в РФ.</p> <p>Механизмы вирусного канцерогенеза. РНК-геномные онкогенные вирусы (классификация, характеристика, вызываемые опухолевые процессы). ДНК-геномные онкогенные вирусы (классификация, характеристика, вызываемые опухолевые процессы). Папилломавирусы и их характеристика. "Ускользание" опухоли от иммунного надзора.</p> <p>Медленные инфекции человека и животных (определение, классификация, этиология). Прионы, их характеристика. Понятие о виридах.</p>		<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [4], [8], [13], [22] 				
		Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог

Лабораторная работа – выполняется индивидуально.

Задание	ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ			
<p>1. Учет ИФА для диагностики ВИЧ-инфекции.</p>				
	<p>В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p> <ul style="list-style-type: none"> - моноклональные антитела к р24; - рекомбинантные эпитопы gp41; - рекомбинантные эпитопы gp120. <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 (т.о. сигнал о связывании усиливается в четыре раза).</p>	<p>При добавлении сыворотки пациента происходит связывание р24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p>	<p>При добавлении конъюгатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> - биотина (антитела против гликопротеинов ВИЧ, анти-р24) и пероксидазы хрена (gp41, gp120) происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена. <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 (т.о. сигнал о связывании усиливается в четыре раза).</p>	<p>При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта</p>

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Структура	<p>ВИЧ – сферическая форма, 100 нм, суперкапсид формируется при почковании через плазматическую мембрану. Сердцевина похожа на усеченный цилиндр</p>
------------------	---



_____ вирусом
(обозначить цифрами
структуры вириона)

- 9. ICAM1
- 10. СурА
- 11. Линейная, димерная, несегментированная, ssRNA(+)

	белок, молекулярная масса, кДа	место локализации, химическая природа, функция
1.	gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)	поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку
2.	p6, p17	матриксные белки
3.	p24, p25	капсидные белки
4.	p7, p9	нуклеокапсидные белки
5.	p10, p11	белки протеазы
6.	p32	интеграза
7.	p15	РНКаза
8.	p51/p66	обратная транскриптаза

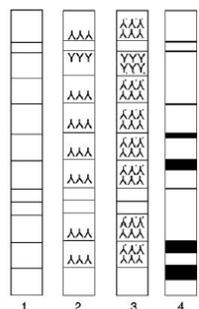
Семейство RETROVIRIDAE, около 150 видов

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

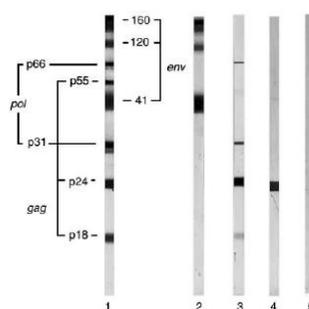
**Геном ВИЧ – две идентичные копии плюс-нити РНК.
Три структурных гена и семь регуляторных**

Род	Типовой вид и некоторые представители родов	Гены	Функция
<i>Alpharetrovirus</i>	Вирусы лейкоза, саркомы птиц, саркомы Рауса кур	gag (group specific antigen) структурный	Групповой антиген, кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные и белки протеазы
<i>Betaretrovirus</i>	Вирус рака молочных желез мышей, эндогенный ретровирус человека, вирус обезьян Мезон-Пфайзера	pol (polymerase) структурный	кодирует обратную транскриптазу (РНК-зависимая ДНК-полимераза), протеазу, интегразу (p51/p66, p32-интегразу, p15-РНКазу)
<i>Gammaretrovirus</i>	Вирусы саркомы и лейкемии мышей, кошек, приматов	env (envelope-оболочка) структурный (геном ВИЧ-2 отличается от генома ВИЧ-1 структурой гена env)	кодирует образование гликопротеиновой оболочки (трансмембранный белок - gp41, поверхностный белок - gp120)
<i>Deltaretrovirus</i>	Вирус лейкемии крупного рогатого скота, лимфотропные вирусы Т-клеток человека (HTLV-1,-2)		
<i>Epsilonretrovirus</i>	Вирус саркомы кожи	tat, rev, net, vif, vpr, vpr, vpr (имеется у ВИЧ-1), vpx (имеется у ВИЧ-2) - регуляторные и функциональные	Выполняют регуляторные функции (tat, rev, nef), обеспечивают процессы репродукции и участие вируса в инфекционном процессе (vif, vpr, vpr, vpx)
<i>Lentivirus</i>	Вирус иммунодефицита человека, вирус Мэди/Висна		
<i>Spumavirus</i>	Пенящие вирусы человека, обезьян, бычий синцитиальный вирус		

Иммуноблоттинг для диагностики ВИЧ-инфекции



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



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

ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

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

РНК-ГЕНОМНЫЕ ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

Онкогенными РНК-содержащими вирусами являются представители пяти родов ретровирусов (*Retroviridae*), подсемейство онкорнавирусы (*Oncornavirinae*) — *Alpharetrovirus* (вирус миелобластома птиц — AMV, вирус саркомы Рауса — RSV), *Betaretrovirus* (вирус опухолей молочных желез мышей — MMTV), *Gammaretrovirus* (вирус лейкемии мышей —

<p>vitro и in vivo.</p> <p>Признаки трансформации клетки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ослабление (потеря) адгезии • повышение подвижности • приобретение инвазивных свойств • утрата чувствительности к механизмам контроля пролиферации и дифференцировки • способность формировать опухоли <p>повышенная частота хромосомных aberrаций, в т.ч. и специфических.</p>	<p>MuLV), <i>Deltaretrovirus</i> (вирус лейкоза крупного рогатого скота, вирус Т-клеточного лейкоза человека — BLV, HTLV), <i>Epsilonretrovirus</i> (вирус лейкомы роговицы — WDSV).</p> <p>Механизмы онкогенной трансформации включают внесение в клетку высокоактивных генов (гомологов нормальных клеточных генов) способных вызывать трансформацию клеток в культуре (онкогены). Вирусные онкогены обозначают v-<i>onc</i>, а соответствующие клеточные гены — <i>c-<i>onc</i></i>. В настоящее время идентифицированы многие онкогены и определены их функции (ростовые факторы, рецепторы ростовых факторов, G-белки, сигнальные факторы, транскрипционные факторы, регуляторы апоптоза и клеточного цикла и др.).</p> <p>Онкогенные РНК-геномные вирусы (HTLV) могут вызывать трансформацию и без онкогенов, путем специфической интеграции:</p> <ul style="list-style-type: none"> • усиливая собственным промотором активность нормальных клеточных генов (IL2, PИL2, <i>c-fos</i>); • нарушая функцию противоопухолевых генов и факторов клетки (ген ретинобластомы, p53 и др.).
--	---

ДНК-ГЕНОМНЫЕ ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

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

ДНК-геномные онкогенные вирусы используют сходные механизмы трансформации:

- усиление активности промоторов клеточных онкогенов (транслокация либо специфическая интеграция). При этом клеточные онкогены подвергаются действию сильных промоторов других генов. Часто это гены цепей иммуноглобулинов или ТКР).
- внесение в клетку высокоактивных онкогенов.

ДНК-геномные онкогенные вирусы имеют собственные онкогены, частично родственные нормальным клеточным белкам. Механизм действия таких онкогенов опосредуется нарушением апоптоза клеток и приводит к бессмертию и опухолевой прогрессии клеток-мишеней. Ряд вирусов экспрессируют механизмы, угнетающие функцию антионкогенных белков клеток человека. Аденовирусы связывают и нейтрализуют продукт гена ретинобластомы, вирус гепатита С связывает антионкоген p53, а папилломавирусы вызывают разрушение его на протеосомах.

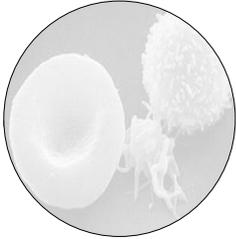
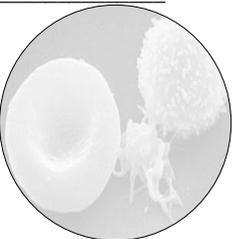
ОПУХОЛЬ	КЛЕТОЧНЫЙ ОНКОГЕН	ПРОМОТОР	ВИРУС	ОНКОГЕН (ПРОДУКТ)
			Аденовирусы	Регион E1A
Лимфома Беркита	Мус	Гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов	SV40	Большой Т-ag
Хронический В-клеточный лимфолейкоз	Bcl1, bcl2	Гены тяжелой цепи иммуноглобулинов	Полиомавирус	Большой Т-ag
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	tcl1	Гены ТКР	Лимфотропные вирусы	Большой Т-ag
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	Мус	Гены ТКР	Вирус папилломы человека 16	E7

Подпись преподавателя _____

Занятие № 36 (18). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Общая и частная медицинская вирусология»

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

Занятие № 37 (19). Основы медицинской микологии и протозоологии. Микробиологическая диагностика микозов и протозойных инвазий

<p>Перечень изучаемых вопросов: Классификация и общая характеристика грибов. Возбудители дермато-микозов, кератомикозов, глубоких микозов. Кандидоз и условия, способствующие его возникновению. Общие принципы диагностики микозов. Возбудитель пневмоцистоза.</p> <p>Общая характеристика и классификация простейших. Патогенные представители. Лабораторная диагностика малярии, токсоплазмоза, амебиаза, лямблиоза, трихомониоза.</p> <p>Возбудитель криптоспоридиоза.</p>		<p>Источники:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Материал лекции, ЭУМК - Учебник [1], [2], [9], [10], [11], [15] - Практикум [3], [14] - Доп. Литература [8], [13], [22] 				
		Опрос	Лабораторная работа	Тест	Самостоятельная работа	Итог
Лабораторная работа – выполняется индивидуально.						
Задание	Результаты					
<p>1. Приготовить препарат чистой культуры кандид, окрасить по Граму.</p> <p>2. Зарисовать демонстрационные препараты.</p> <p>- патогенные простейшие:</p> <p>- патогенные грибы:</p>	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____		
	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____		
	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____	Препарат _____  Окраска _____		

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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.

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 углеводов ингибирует рост бактерий. На питательных средах диморфные грибы (возбудители подкожных, глубоких микозов) растут в мицелиальной форме при 20-25 °С. Идентификация чистой культуры проводится по морфологическим и биохимическим признакам.

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

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

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

ДИАГНОСТИКА ПРОТОЗООЗОВ

АМЕБИАЗ

Микроскопический метод (основной). Микроскопия испражнений, содержимого абсцессов внутренних органов. Мазки окрашивают раствором Люголя или гематоксилином. Обнаруживают тканевые формы с фагоцитированными эритроцитами или четырехъядерные цисты. В нативных препаратах изучается характерная подвижность вегетативных форм. Для идентификации используется РИФ

Серологический метод: РПГА, ИФА, РСК и др. Наиболее высокий титр антител выявляют при внекишечном амебиазе.

Некоторые непатогенные амебы морфологически идентичны *Entamoeba histolytica*. Поэтому дифференциация основана на ферментативных, иммунологических или молекулярно-генетических анализах.

ТРИПАНОСОМЫ

Микроскопический метод. Мазки из крови, пунктата шейных лимфатических узлов, цереброспинальной жидкости красят по Романовскому-Гимзе. В нативных мазках обнаруживают подвижные трипаносомы.

Культуральный метод. Культура трипаносом может быть получена посевом на питательные среды с кровью, а также заражением белых мышей или крыс.

Серологический метод. Определение IgM можно проводить многими серологическими реакциями (ИФА, РСК, непрямой РИФ и др.)

ТРИХОМОНИАЗ

Микроскопический метод. Мазки из отделяемого мочеиспускательного канала, секрета предстательной железы или осадка ночи окрашивают по Романовскому-Гимзе (ядро трофозоида фиолетово-рубинового цвета, цитоплазма, - голубого, а блефаропласт, жгутики, аксостиль – розово-красного цвета), метиленовым синим. Возможно использование нативных мазков. Применяют РИФ.

Культуральный метод. При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах с белком. Метод дает хорошие результаты при установле-

ЛЕЙШМАНИОЗ

Микроскопический метод. В мазках из кожных поражений (бугорки, содержимое язв), костного мозга, окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаруживают амастиготы (безжгутиковые), у которых ядро и кинетопласт окрашиваются в красно-фиолетовый цвет, а цитоплазма - в голубовато-сиреневый. Используется РИФ.

Культуральный метод. При посеве на питательную среду (кровяной агар) амастиготы превращаются в промастиготы (жгутиковые).

Экспериментальный метод. Заражение мышей, хомячков.

Серологический метод. Выявляют антитела в РСК, РПГА.

Аллергологический метод. Кожно-аллергическая проба на ГЗГ к лейшманину (препарат из убитых промастигот) при эпидемиологических исследованиях.

ЛЯМБЛИОЗ

Микроскопический метод (основной). В мазках из испражнений выявляют цисты, в случае диареи – вегетативные формы, которые так же обнаруживают и в дуоденальном содержимом. Окрашивание раствором Люголя. В испражнениях выделение паразита может быть непостоянным.

Культуральный метод. Возможно культивирование на питательных средах.

Серологический метод. Используется определение антител в непрямой РИФ. Титры антител выше при клинически выраженном лямблиозе.

МАЛЯРИЯ

Микроскопический метод. Исследование препаратов крови (мазок, толстая капля), окрашенных по Романовскому-Гимзе. Выявляются различные формы возбудителя (красное ядро, голубая цитоплазма). Дифференцировка видов проводится на основании морфологических особенностей паразитов и пораженных эритроцитов. Если паразиты не обнаружены в крови взятой на высоте лихорадки, то повторяют исследование мазков крови через 12 ч и т.д.

Серологический метод. Антитела определяются в непрямой РИФ, РПГА, ИФА. С помощью РИФ проводится серологическая идентификация антигенов.

нии наступившего освобождения от трихомонад после лечения.	Молекулярно-биологический метод. Для дифференцировки от других внутриэритроцитарных паразитов используют ПЦР.
--	--

<p><u>ТОКСОПЛАЗМОЗ</u> Микроскопический метод. Мазки из биоптатов, биологических жидкостей (крови, ликвора, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др), окрашенные по Романовскому-Гимзе. Возможно выявление антигенов токсоплазм с помощью РИФ. Культуральный метод. Возможно культивирование токсоплазм на культурах клеток, куриных эмбрионах (заражение на хорион-аллантоисную оболочку). Серологический метод (основной). Выявление IgM свидетельствует о ранних сроках заболевания. IgG достигают максимума на 4-8 неделе болезни. Применяются непрямая РИФ, РПГА, РСК, ИФА. Аллергологический метод. Внутрикожная проба с токсоплазмином, выявляющая ГЗТ. Экспериментальный метод. Мыши погибают через 7-10 дней после парентерального (в брюшную полость или головной мозг) введения им инфицированного материала больных людей. В их органах обнаруживаются токсоплазмы при микроскопии. Если животные не погибают, то в дальнейшем у них можно обнаружить специфические антитела.</p>	<p><u>БАЛАНТИДИАЗ</u> Микроскопический метод. Проводится микроскопия мазков из фекалий. Исследуют нативный мазок (раздавленная капля) под малым увеличением микроскопа, наблюдая активное движение крупных балантидий. Культуральный метод. Возможен, но к нему прибегают редко.</p>
--	---

Самостоятельная работа – выполняется индивидуально.

1. Ознакомиться с нормативным документом.
2. Выписать основные положения в части микробиологического обеспечения организации мероприятий.
3. Выписать наименование связанных документов, ознакомиться с содержанием.

Санитарные нормы и правила «**Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения малярии**», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21 марта 2013 г. № 23.

Подпись преподавателя _____

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учеб. / Л. Б. Борисов, А. М. Смирнова, И. С. Фрейдлин ; под ред. Л. Б. Борисова, А. М. Смирновой. М. : Медицина, 2005. 736 с.
2. *Павлович, С. А.* Микробиология с вирусологией и иммунологией : учеб. пособие / С. А. Павлович. Минск : Выш. шк., 2013. 799 с.

Дополнительная

3. *Борисов, Л. Б.* Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии : учеб. пособие / Л. Б. Борисов, Б. Н. Козьмин-Соколов, И. С. Фрейдлин. М. : Медицина, 1993. 240 с.
4. *Вирусология* (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций) : учеб.-метод. пособие / Л. П. Титов [и др.]. Минск : БГМУ. 2003. 76 с.

5. Горбунов, В. А. Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. Минск : БГМУ. 2006. 40 с.
6. Иммунология : учеб. / под ред. Р. М. Хаитова. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 528 с.
7. Специфическая иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний : учеб.-метод. пособие / Т. А. Канашкова [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 84 с.
8. Красильников, А. П. Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. Минск : Асар, 1999. 400 с.
9. Воробьев, А. А. Медицинская и санитарная микробиология : учеб. / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. 4-е изд. М. : Академия, 2010. 480 с.
10. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студ. мед. вузов / под ред. А. А. Воробьева. 2-е изд., испр. и доп. М. : Медицинское информационное агентство, 2012. 704 с.
11. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» для студ. учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечебное дело», 060103.65 «Педиатрия», 060104.65 «Медико-профилактическое дело». В 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. Т. 1. 448 с. Т. 2. 400 с.
12. Новиков, Д. К. Медицинская иммунология : учеб. пособие / Д. К.Новиков. Минск : Выш. шк., 2005. 301 с.
13. Общая медицинская микробиология : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2011. 320 с.
14. Павлович, С. А. Медицинская микробиология : практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск : Выш. шк., 1993. 200 с.
15. Поздеев, О. К. Медицинская микробиология : учеб. пособие / О. К. Поздеев ; под ред. В. И.Покровского. 4-е изд. испр. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 768 с.
16. Слизень, В. В. Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ, 2007. 48 с.
17. Титов, Л. П. Иммунология : терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2004. 213 с.
18. Хаитов, Р. М. Иммунология. Атлас / Р. М. Хаитов, А. А. Ярилин, Б. В. Пинегин. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 624 с.
19. Черношей, Д. А. Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ. 2007. 28 с.
20. Аллергия. Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 31 с.
21. Черношей, Д. А. Распознавание в системе врожденного иммунитета : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2010. 48 с.
22. Методы исследования в микробиологии : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2010. 124 с.
23. Ярилин, А. А. Иммунология : учеб. / А. А. Ярилин. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.

Приложение 1. Классификация бактерий

ПРОКАРИОТЫ по Bergy, 2001 ДОМЕН (DOMAIN) BACTERIA

ТИП (PHYLUM)	КЛАСС (CLASS)	ПОРЯДОК (ORDER)	СЕМЕЙСТВО (FAMILY)	РОД (GENUS)	ВИД (SPECIES)
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia</i>	<i>R.prowazekii, R.typhi, R.felis, R.rickettsii, R.conorii, R.australis, R.akari, R.sibirica, R.japonica, R.honei</i>
				<i>Orientia</i>	<i>O.tsutsugamushi</i>
		Ehrlichiaeae	<i>Ehrlichia</i>	<i>E.chaffeensis, E.sennetsu, E.equilike (E.phagocytophila)</i>	
	Rhizobiales	Bartonellaceae	<i>Bartonella</i>	<i>B.quintana, B.henselae, B.bacilliformis, B.chlaridgeae, B.elizabethae</i>	
		Brucellaceae	<i>Brucella</i>	<i>B.melitensis, B.abortus, B.suis u др.</i>	
		Burkholderiaceae	<i>Burkholderia</i>	<i>B.mallei, B.pseudomallei, B.cepacia u др.</i>	
Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Alcaligenes</i>	<i>A.faecales u др.</i>	

ТИП (PHYLUM)	КЛАСС (CLASS)	ПОРЯДОК (ORDER)	СЕМЕЙСТВО (FAMILY)	РОД (GENUS)	ВИД (SPECIES)
	<i>bacteria</i>			<i>Bordetella</i>	<i>B.pertussis</i> , <i>B.parapertussis</i> , <i>B.bronchiseptica</i> u др.
		<i>Neisseriales</i>	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria</i>	<i>N.gonorrhoeae</i> , <i>N.meningitidis</i> , <i>N.sicca</i> , <i>N.subflava</i> u др.
				<i>Eikenella</i>	<i>E.corrodens</i>
	<i>Kingella</i>			<i>K.kingae</i> u др.	
		<i>Nitrozomonadales</i>	<i>Spirillaceae</i>	<i>Spirillum</i>	<i>S.minus</i> u др.
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Thiotrichales</i>	<i>Francisellaceae</i>	<i>Francisella</i>	<i>F.tularensis</i>
		<i>Legionellales</i>	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella</i>	<i>L.pneumophila</i> u др.
			<i>Coxiellaceae</i>	<i>Coxiella</i>	<i>C.burnetii</i>
		<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>P.aeruginosa</i> u др.
			<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	Подрод <i>Moraxella</i> (<i>M.lacunata</i> u др.); Подрод <i>Branhamella</i> (<i>B.catarralis</i> u др.)
				<i>Acinetobacter</i>	<i>A.calcoaceticus</i> u др.
		<i>Vibrionales</i>	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>	<i>V.cholerae</i> (буовары: <i>cholerae</i> , <i>eltor</i>), <i>V.parahaemolyticus</i> , <i>V.vulnificus</i> , <i>V.sputorum</i> u др.
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>A.hydrophilia</i>
		<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>E.cloacae</i> , <i>E.sakazakii</i> , <i>E.agglomerans</i> , <i>E.gergoviae</i> u др.
				<i>Calymmatobacterium</i>	<i>C.granulomatis</i>
				<i>Citrobacter</i>	<i>C.freundii</i> , <i>C.amalonaticus</i> , <i>C.diversus</i> u др.
				<i>Edwardsiella</i>	<i>E.tarda</i> u др.
				<i>Erwinia</i>	<i>E.amylovora</i> u др.
				<i>Escherichia</i>	<i>E.coli</i> , <i>E.fergusonii</i> , <i>E.germannii</i> , <i>E.vulneris</i> , <i>E.blattae</i>
	<i>Hafnia</i>			<i>H.alvei</i>	
	<i>Klebsiella</i>			<i>K.pneumoniae</i> (подвиды: <i>ozaenae</i> , <i>rhinoscleromae</i> , <i>pneumoniae</i>), <i>K.oxytoca</i> , <i>K.planticola</i> , <i>K.terrigena</i>	
	<i>Morganella</i>			<i>M.morganii</i>	
	<i>Plesiomonas</i>			<i>P.shigelloides</i>	
	<i>Proteus</i>			<i>P.vulgaris</i> , <i>P.mirabilis</i> , u др.	
	<i>Providencia</i>			<i>P.alcallifaciens</i> u др.	
	<i>Salmonella</i>			<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>hontenae</i> , <i>indica</i> , <i>salamae</i>). Серовары: <i>S.Typhi</i> , <i>S.Paratyphi A</i> , <i>S.Schottmuelleri</i> , <i>S.Enteritidis</i> , <i>S.Typhimurium</i> , <i>S.Choleraesuis</i> u др.	
	<i>Serratia</i>	<i>S.marcescens</i> u др.			
<i>Shigella</i>	<i>S.dysenteriae</i> , <i>S.flexneri</i> , <i>S.boydii</i> , <i>S.sonnei</i>				
<i>Yersinia</i>	<i>Y.pestis</i> , <i>Y.enterocolitica</i> , <i>Y.pseudotuberculosis</i> u др.				
	<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>H.influenzae</i> , <i>H.ducreyi</i> u 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> u др.	
		<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>H.pylori</i> , <i>H.heilmannii</i> u др.	
			<i>Wolinella</i>	<i>W.succinogenes</i>	
Firmicutes	<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.defficile</i> u др.
			<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P.anaerobius</i> u 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>Selenomonas</i>	<i>S.sputigena</i>
			<i>Veillonella</i>	<i>V.parvula</i> u 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> u др.

ТИП (PHYLUM)	КЛАСС (CLASS)	ПОРЯДОК (ORDER)	СЕМЕЙСТВО (FAMILY)	РОД (GENUS)	ВИД (SPECIES)
				<i>Ureaplasma</i>	<i>U.urealiticum</i> u др.
	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	<i>B.anthraxis, B.cereus</i> u др.
			<i>Listeriaceae</i>	<i>Listeria</i>	<i>L.monocytogenes</i> u др.
			<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus</i> u др.
		<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>L.caseii, L.fermentum</i> , u др.
			<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>E.faecalis, E.faecium</i> u др.
			<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>L.mesenteroides</i>
			<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>S.pyogenes, S.pneumoniae, S.agalactiae, S.anginosus, S.bovis, S.mutans, S.mitis, S.salivarius, S.sanguis, S.milleri</i> u др.
		<i>Lactococcus</i>	<i>L.lactis</i> u др.		
Actinobacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>A.israelii, A.naeslundii, A.viscosus, A.odontolyticus, A.pyogenes,</i>
			<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>M.lysodeicticum, M.luteus</i> u др.
			<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>C.diphtheriae, C.ulcerans, C.urealyticum, C.xerosis</i> u др.
			<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>M.tuberculosis, M.bovis, M.africanum, M.leprae, M.kasasii, M.avium, M.ulcerans, M.fortuitum</i> u др.
			<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>	<i>N.asteroides, N.farcinica</i> u др.
			<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>P.acnes, P.propionicus</i> u др.
		<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.bifidum</i> u др.
		<i>Gardnerella</i>	<i>G.vaginalis</i>		
Chlamydiae	<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C.trachomatis</i>
				<i>Chlamydophila</i>	<i>C.psittaci, C.pneumoniae</i>
Spirochaetes	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetales</i>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Borrelia</i>	<i>B.recurrentis, B.burgdorferi, B.duttoni, B.persica</i> u др.
				<i>Treponema</i>	<i>T.pallidum</i> (подвиды – <i>pallidum, endemicum, pertenue</i>), <i>T.carateum, T.denticola, T.minutum, T.refringens, T.scoliodontum, T.vincentii</i> u др.
			<i>Leptospiraceae</i>	<i>Leptospira</i>	<i>L.interrogans, L.biflexa</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>B.fragilis, B.gingivalis</i> u др.
			<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>P.gingivalis, P.endodontales</i> u др.
			<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>P.melaninogenica, P.denticola</i> u др.
	<i>Flavobacteria</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>F.meningosepticum, F.breve</i> u др.
Fusobacteria	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>F.nucleatum, F.necroforum, F.vincentii</i> u др.
				<i>Leptotrichia</i>	<i>L.buccalis</i> u др.
				<i>Streptobacillus</i>	<i>S.moniliformis</i>

Приложение 2. Классификация вирусов человека и животных

ORDER	FAMILY	SUBFAMILY	GENUS	SPECIES	GENOME
Herpesvirales	Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Simplexvirus	<i>Human herpesvirus 1</i>	dsDNA
				<i>Human herpesvirus 2</i>	
			Varicellovirus	<i>Human herpesvirus 3</i>	
		Betaherpesvirinae	Cytomegalovirus	<i>Human herpesvirus 5</i>	
				Roseolovirus	
				<i>Human herpesvirus 6B</i>	
				<i>Human herpesvirus 7</i>	

ORDER	FAMILY	SUBFAMILY	GENUS	SPECIES	GENOME				
Unassigned		Gammaherpesvirinae	Lymphocryptovirus	<i>Human herpesvirus 4</i>					
			Rhadinovirus	<i>Human herpesvirus 8</i>					
	Adenoviridae		Mastadenovirus	<i>Human mastadenovirus C (A, B, D-G)</i>					
	Iridoviridae		Megalocytivirus	<i>Infectious spleen and kidney necrosis virus</i>					
	Papillomaviridae			Alphapapillomavirus		<i>Alphapapillomavirus 1</i>			
				Betapapillomavirus		<i>Betapapillomavirus 1</i>			
				Gammapapillomavirus		<i>Gammapapillomavirus 1</i>			
				Mupapillomavirus		<i>Mupapillomavirus 1</i>			
				Nupapillomavirus		<i>Nupapillomavirus 1</i>			
	Polyomaviridae		Polyomavirus	<i>BK, JC, Human polyomavirus</i>					
	Poxviridae	Chordopoxvirinae		Orthopoxvirus		<i>Vaccinia virus</i> <i>Variola virus</i>			
Molluscipoxvirus				<i>Molluscum contagiosum virus</i>					
Parvoviridae	Parvovirinae		Dependoparvovirus	<i>Adeno-associated dependoparvovirus A, B</i>	ssDNA(+/-)				
Hepadnaviridae			Orthohepadnavirus	<i>Hepatitis B virus</i>	dsDNA-RT				
Mononegavirales	Bornaviridae		Bornavirus	<i>Mammalian 1 bornavirus</i>	ssRNA(-)				
	Filoviridae			Ebolavirus		<i>Bundibugyo ebolavirus</i> <i>Reston ebolavirus</i> <i>Sudan ebolavirus</i> <i>Tai Forest ebolavirus</i> <i>Zaire ebolavirus</i>			
				Marburgvirus		<i>Marburg marburgvirus</i>			
				Paramyxoviridae		Paramyxovirinae		Avulavirus	<i>Newcastle disease virus</i>
								Morbillivirus	<i>Measles virus</i>
								Respirovirus	<i>Human parainfluenza virus 1, 3</i> <i>Sendai virus</i> <i>Human parainfluenza virus 2, 4</i> <i>Mumps virus</i>
	Metapneumovirus	<i>Human metapneumovirus</i>							
	Pneumovirus	<i>Human respiratory syncytial virus</i>							
	Rhabdoviridae			Lyssavirus		<i>Rabies virus</i>			
				Vesiculovirus		<i>Vesicular stomatitis Indiana virus</i>			
	Unassigned	Orthomyxoviridae		Influenzavirus A		<i>Influenza A virus</i>			
				Influenzavirus B		<i>Influenza B virus</i>			
				Influenzavirus C		<i>Influenza C virus</i>			
		Unassigned				Deltavirus	<i>Hepatitis delta virus</i>		
	Nidovirales	Coronaviridae	Coronavirinae	Alphacoronavirus		<i>Human coronavirus 229E, NL63</i>	ssRNA(+)		
			Betacoronavirus	<i>Human coronavirus HKU1</i>					
		Torovirinae	Torovirus	<i>Human torovirus</i>					
Picornavirales	Picornaviridae		Aphthovirus	<i>Foot-and-mouth disease virus</i>					

ORDER	FAMILY	SUBFAMILY	GENUS	SPECIES	GENOME
			Cardiovirus	<i>Cardiovirus A</i>	
			Enterovirus	<i>Enterovirus C (A, B, D-J)</i> <i>Rhinovirus A, B, C</i>	
			Hepatovirus	<i>Hepatovirus A</i>	
			Hunnivirus	<i>Hunnivirus A</i>	
Unassigned	Astroviridae		Mamastrovirus	<i>Mamastrovirus 1</i>	
	Caliciviridae		Norovirus	<i>Norwalk virus</i>	
	Flaviviridae		Flavivirus	<i>Dengue virus</i>	
				<i>Omsk hemorrhagic fever virus</i>	
				<i>Tick-borne encephalitis virus</i>	
				<i>Yellow fever virus</i>	
	Togaviridae		Alphavirus	<i>O'nyong-nyong virus</i>	
				<i>Sindbis virus</i>	
				<i>Venezuelan equine encephalitis virus</i>	
			Rubivirus	<i>Rubella virus</i>	
			Arenaviridae		Mammarenavirus
	<i>Lassa mammarenavirus</i>				
	<i>Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus</i>				
	<i>Machupo mammarenavirus</i>				
	Bunyaviridae		Hantavirus	<i>Hantaan virus</i>	
				<i>Khabarovsk virus</i>	
			Nairovirus	<i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus</i>	
			Orthobunyavirus	<i>Bunyamwera virus</i>	
			Phlebovirus	<i>Rift Valley fever virus</i>	
	Picobirnaviridae		Picobirnavirus	<i>Human picobirnavirus</i>	dsRNA
Reoviridae	Sedoreovirinae	Orbivirus	<i>Bluetongue virus</i>		
		Rotavirus	<i>Rotavirus A</i>		
	Spinareovirinae	Coltivirus	<i>Colorado tick fever virus</i>		
Retroviridae	Orthoretrovirinae	Lentivirus	<i>Human immunodeficiency virus 1, 2</i>	ssRNA-RT	
		Deltaretrovirus	<i>Primate T-lymphotropic virus 1</i>		

Приложение 3. Классификация грибов

Домен *EUKARYA*, царство *FUNGI (MYCETES, MYCOTA)*,
включают 6 типов из которых 4 имеют медицинское значение

Тип	Класс	Порядок	Основные роды	Болезни людей
-----	-------	---------	---------------	---------------

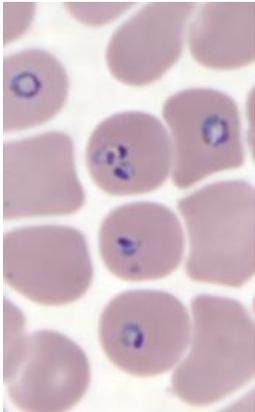
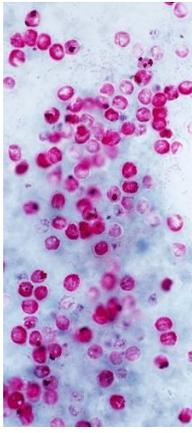
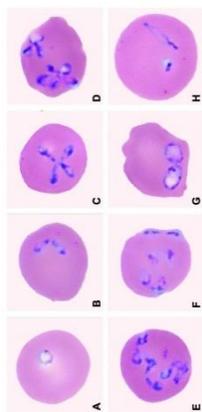
Zygomycota	<i>Zygomycetes</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i>	зигомикоз
		<i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>	
Ascomycota	<i>Ascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	Дрожжи: <i>Saccharomyces, Pichia</i> (телеоморфы <i>Candida spp.</i>)	многочисленные микозы
		<i>Onygenalis</i>	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы <i>Trichophyton</i> и <i>Microsporum</i>)	дерматомикозы
		<i>Eurotiales</i>	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus</i> и <i>Penicillium spp.</i>	аспергиллез, пенициллез, гиалогифомикоз
		<i>Microascales</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеоморфа <i>Scedosporium apiospermum</i>)	мицетома, гиалогифомикоз
	<i>Pyrenomycetes</i>	<i>Nectria, Gibberelia</i> (телеоморфы многих <i>Fusarium spp.</i>)	кератоз, гиалогифомикоз	
	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>	пневмония
Basidiomycota	<i>Basidiomycetes</i>	<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 митоспоровые 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, поражающие водоросли.				
2) Оомицеты – организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты отличаются от грибов по 6 биологическим признакам – теперь их относят к царству <i>Stramenopila</i> , типу <i>Oomycota</i>).				

МИКОЗЫ, КЛАССИФИКАЦИЯ, ВОЗБУДИТЕЛИ

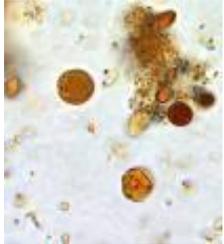
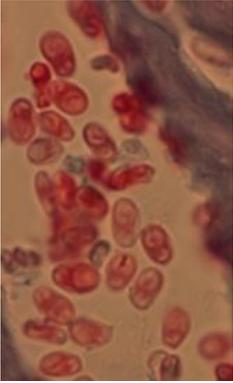
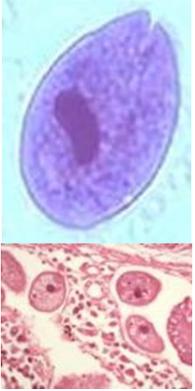
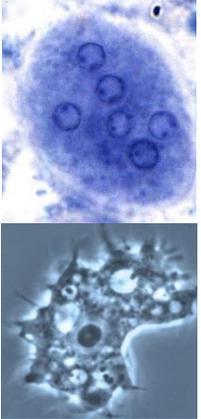
Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий (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 schoenleini</i>	Фавус
	ЗООФИЛЬНЫЕ ДЕРМАТОФИТЫ:	
	<i>Microsporum canis, M. gallinae</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton verrucosum, T. equinum</i>	Трихофития
	ГЕОФИЛЬНЫЕ ДЕРМАТОФИТЫ:	
	<i>Microsporum cookei, M. gypseum, M. nanum, M. fulvum</i>	Микроспория
	Возбудители подкожных (субкутанных) микозов	<i>Sporothrix schenckii</i>
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.		Мицетоза
Возбудители системных (глубоких) микозов	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Гистоплазмоз
	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Бластомикоз
	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Паракокцидиоидомикоз
	<i>Coccidioides immitis</i>	Кокцидиоидомикоз
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Криптококкоз
Возбудители оппортунистических микозов	<i>Candida spp.</i>	Кандидоз
	<i>Mucor spp., 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

Домен *EUKARYA*, царство *ANIMALIA*, подцарство *PROTOZOA*,
включают 7 типов, из которых 4 (представлены в таблице) имеют медицинское значение

ТАКСОНЫ	ТИП – <i>APICOMPLEXA</i> класс – <i>Sporozoa</i> (споровики)						
ПРЕДСТАВИТЕЛИ	ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ: <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i>	ТОКСОПЛАЗМЫ : <i>Toxoplasma gondii</i>	САРКОЦИСТЫ: <i>Sarcocystis species</i>	ИЗОСПОРЫ: <i>Isospora species</i>	КРИПТОСПОРИДИИ: <i>Cryptosporidium species</i>	ЦИКЛОСПОРЫ: <i>Cyclospora cauetanensis</i>	БАБЕЗИИ: <i>Babesia species</i>
ЗАБОЛЕВАНИЯ	Трехдневная малярия Трехдневная малярия (ovale) Четырехдневная малярия Тропическая малярия	Токсоплазмоз	Саркоцистоз	Диарея	Диарея	Диарея	Бабезиоз
МОРФОЛОГИЯ							

ТАКСОНЫ	Микробы спорного таксономического положения:	ТИП MICROSPORA класс <i>Microsporea</i>	ТИП CILIOPHORA (реснитчатые) класс <i>Kineto-</i>	ПОДТИП MASTIGOPHORA (жгутиконосцы)	ТИП SARCOMASTIGOPHORA подтип <i>Sarcodina</i>
----------------	---	---	---	--	---

			<i>fragmino-phorea</i>					(саркодовые)	
ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БЛАСТОЦИСТЫ: <i>Blastocystis hominis</i>	МИКРОСПОРИДИИ: <i>Encephalitozoon species Enterocytozoon species</i>	БАЛАНТИДИИ: <i>Balantidium coli</i>	ТРИХОМОНАДЫ: <i>Trichomonas vaginalis</i>	ЛЯМБЛИИ: <i>Lambliа intestinalis (Giardia lamblia)</i>	ТРИПАНОСОМЫ: <i>Tripanosoma gambiense, Tripanosoma rodesiense Tripanosoma cruzi</i>	ЛЕЙШМАНИИ: <i>Leishmania species</i>	АМЕБЫ: <i>Entamoeba histolytica</i>	Неглерии, акант-амебы, гартманеллы
ЗАБОЛЕВАНИЯ	Бластоцитоз (Диарея)	Микроспоридиоз	Балантидиазная дизентерия	Вагинит, уретрит, простатит	Диарея, синдром мальабсорбции (нарушение всасывания)	Сонная болезнь (африканский трипаномоз) Болезнь Шагаса (американский трипаномоз)	Лейшманиозы	Амебиаз	Амебный менингоэнцефалит, кератит
МОРФОЛОГИЯ									

Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Республики Беларусь*

НОЗОФОРМА	ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НА 100000 ЧЕЛОВЕК					НОЗОФОРМА	ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НА 100000 ЧЕЛОВЕК				
	2010	2012	2013	2014	2015		2010	2012	2013	2014	2015
Аскаридоз	33,22	24,41	21,53	18,96		Микроспория	38,43	34,09	33,99	29,69	
Ветряная оспа	549,00	822,00	514,3	671,00		Мононуклеоз инфекционный	16,23	19,7	19,45	20,23	
ВИЧ носительство	11,3	12,9	16,2			ОКИ	136,80	119,20	125,60	126,60	

Геморрагические лихорадки	0,22	0,62	1,6	0,89	ОИ ВДП+Грипп	37310	34227	38086	31518	
Гепатит А	1,77	0,38	1,08	1,47	Паротит эпидемический	1,00	0,70	0,10	0,04	
Гепатит В	1,60	1,20	1,10	1,00	Педикулез	88,59	75,53	67,43	59,10	
Гепатит В носительство	10,75	9,76	9,78	4,96	Псевдотуберкулез	0	0,13	0,06	0,04	
Гепатит В хронический	23,94	7,93	9,75	8,02	Ротавирусная инфекция	53,18	41,09	52,01	51,76	
Гепатит С	0,79	0,82	0,74	0,99	Сальмонеллез	583,0	427,00	39,70	32,20	
Гепатит С носительство	28,71	28,15	22,26	16,00	Сальмонеллез носительство	7,35	6,31	5,02	4,77	
Гепатит С хронический	19,08	29,11	29,21	27,76	Сифилис	13,00	10,80	10,10	9,20	
Гепатит Д/Е				0,01/0,01	Скарлатина	14,20	20,80	15,20	16,30	
Герпетическая инфекция	12,23	8,84	7,28	7,96	Тиф брюшной	0	0,01	0,01	0,00	
Гименолепидоз	0,44	0	0,01	0,00	Трихинеллез	0,44	0,36	0,48	0,54	
Гонорея	37,00	35,90	30,00	23,60	Трихомоноз урогенитальный	144,87	115,39	99,77	85,78	
Грипп	49,66	4,38	537,28	1,39	Трихофития	0,36	0,15	0,08	0,14	
Дизентерия Зонне	0,25	0,24	0,15	0,22	Трихоцефалез	1,93	1,49	1,23	1,22	
Дизентерия носительство	0,22	0,12	0	0,04	Туберкулез	43,36	39,33	37,12	33,86	
Дизентерия Флекснера	0,78	0,26	0,19	0,11	Туберкулез ор. дых.	39,99	36,39	34,53	31,40	
Дифтерия / б/н токсигенная	0,01/0,02	0/0	0/0	0/0,80	Туляремия	0	0	0,03	0,00	
Иерсиниоз кишечный	1,80	1,40	0,80	0,80	Хламидиоз (др. пол.)	114,40	112,70	98,00	75,80	
Коклюш/паракоклюш	1,40/0,16	6,30/0,19	2,00/0,05	4,10/0,13	Цитомегаловирусная инфекция	0,29	0,21	0,21	0,27	
Корь	0,01	0,10	0,20	0,70	Чесотка	64,45	51,54	4,37	32,56	
Краснуха	0	0,10	0,01	0,01	Энтеробиоз	169,38	147,95	133,33	114,18	
Лайма боррелиоз	8,97	11,64	10,88	12,90	Энтеровирусная инфекция	7,52	8,95	13,77	13,66	
Лептоспироз	0,30	0,40	0,30	0,40	Энцефалит клещевой	1,00	1,30	1,20	1,30	
Листериоз	0,02	0	0,04	0,03	* - данные любезно предоставлены проф. Чистенко Г.Н.					
Малярия (впервые)	0,05	0,05	0,05	0,03	Общая заболеваемость	152149	153939	156522	151347	
Менингококковая инфекция	1,40	1,20	1,10	0,70	Численность населения, тыс	9500	9465,1	9463,9	9468,2	9480,9

Приложение 6. Критерии оценки знаний студентов

Основой для определения оценки на экзаменах служит уровень усвоения студентами материала, предусмотренного образовательным стандартом и учебной программой соответствующей дисциплины.

10 (десять) баллов выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, безупречно владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему свободно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, проявившему творческий подход в овладении материалом дисциплины, активно ра-

ботавшему в студенческом научном кружке, проявившим интерес к самостоятельному изучению дополнительной литературы, подготовке рефератов.

9 (девять) баллов выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, безупречно владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему свободно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала.

8 (восемь) баллов выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему точно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала, но допустившему в ответе незначительные погрешности (неточные выражения, несущественные неточности в терминологии, нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).

7 (семь) баллов выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему точно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала, но допустившему в ответе погрешности и несущественные ошибки (неточные выражения, неточности в терминологии, непоследовательность и нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).

6 (шесть) баллов выставляются студенту, выявившему достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы, умеющему правильно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, старатель-

но работавшему на практических занятиях, но допустившему в ответе погрешности и несущественные ошибки (недостаточно продуманный план ответа, неточные выражения, неточные определения понятий, непоследовательность и нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).

5 (пять) баллов выставляются студенту, выявившему достаточные знания, необходимые для дальнейшей учебы и работы по специальности, в объеме учебной программы, умеющему излагать ответы на вопросы и выделять главное, показавшему удовлетворительное владение терминологией и усвоение практических навыков, старательно работавшему на практических занятиях, но допустившему в ответе нарушения логики и последовательности изложения, неточные определения понятий, пробелы в изложении отдельных тем дисциплины.

4 (четыре) балла выставляются студенту, усвоившему основной объем знаний в рамках образовательного стандарта, позволяющий продолжить учебу, удовлетворительно владеющему терминологией, выявившему умение выделить в ответе главное, но допустившему непоследовательность и фрагментарность в изложении ответов на вопросы, незнание определений и сущности некоторых понятий, проявившему затруднения в демонстрации практических навыков.

3 (три) балла выставляются студенту, выявившему не полный объем знаний в рамках образовательного стандарта, недостаточный для продолжения учебы, проявившему недостаточную содержательность и логическую последовательность в изложении ответа на вопросы, неумение выделить в ответе главное, показавшем недостаточное владение терминологией и практическими навыками работы, не отличавшемуся активностью на практических занятиях.

2 (два) балла выставляются студенту, выявившему фрагментарность знаний в рамках образовательного стандарта, обнаружившему пробелы в знаниях или отсутствие знаний по значительной части материала учебной программы, допустившему грубые ошибки в изложении ответа, не владеющему терминологией, не умеющему демонстрировать практические навыки, что в совокупности не позволяет продолжать обучение.

1 (один) балл выставляются студенту, выявившему отсутствие знаний в рамках образовательного стандарта, представившему ответ полностью не по существу поставленных вопросов или отказавшемуся от ответа.

Приложение 7. Рейтинговая система оценки знаний студентов

Рейтинговая оценка знаний проводится поэтапно:

1. В 1 семестре изучения предмета (4 семестр у студентов лечебного, педиатрического, медико-профилактического, фармацевтического и медицинского факультета иностранных учащихся и 3 семестр у студентов стоматологического факультета) *итоговая аттестация проводится в виде зачета.*

Для данных студентов рассчитывается рейтинг по следующей формуле:

$$P_1 = (Cp_{тек} * 0,2 + Cp_{к} * 0,8) + \text{бонусы} - \text{штраф}$$

$Cp_{тек}$ - средний балл текущей успеваемости

$Cp_{к}$ – средняя за коллоквиумы (1 и 2)

Бонусы начисляются за:

- Участие в НИРС на кафедре
- Публикация статей или тезисов
- Призовое место в студенческой Олимпиаде по предмету
- Участие в республиканском конкурсе студенческих научных работ

Штраф начисляется за пропуски без уважительной причины лекций и практических занятий, а также за несвоевременную сдачу коллоквиумов.

При рейтинговой оценке выше 4 студенты могут быть освобождены от сдачи зачета на последнем занятии.

2. Во 2 семестре изучения предмета (5 семестр у студентов лечебного, педиатрического, медико-профилактического, фармацевтического и медицинского факультета иностранных учащихся и 4 семестр у студентов стоматологического факультета) *итоговая аттестация проводится в виде экзамена.*

Для данных студентов рассчитывается рейтинг по следующей формуле:

$$P_2 = (Cp_{тек} * 0,2 + Cp_{к} * 0,8) + \text{бонусы} - \text{штраф}$$

$Cp_{тек}$ - средний балл текущей успеваемости за оба семестра $Cp_{к}$ – средняя за коллоквиумы (1, 2, 3, 4)

Система штрафов и бонусов аналогична таковой в предыдущем семестре.

При рейтинговой оценке ниже 4 студент не допускается до экзамена по предмету

На экзамене выставляется итоговая оценка, которая складывается из:

1. Рейтинговая оценка за 2 семестра – 20%
2. Оценка за устный ответ на экзамене – 80%
3. Сдача практических навыков (штраф за несданные навыки – 1 балл)

Итоговая оценка на экзамене вычисляется по следующей формуле:

$$ИО = P_2 * 0,2 + УО * 0,8 - Ш$$

P_2 - рейтинговая оценка за оба семестра

УО – устный ответ на экзамене

Ш- штраф за несданные практические навыки.

ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Занятие № 1. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски</i>	<i>3</i>
<i>Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски</i>	<i>7</i>
<i>Занятие № 3. Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм</i>	<i>11</i>
<i>Занятие № 4. Противомикробные мероприятия. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика.....</i>	<i>13</i>
<i>Занятие № 5. Бактериологический метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий</i>	<i>16</i>
<i>Занятие № 6. Бактериологический метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.....</i>	<i>20</i>
<i>Занятие № 7. Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики</i>	<i>23</i>
<i>Занятие № 8. Экология микробов. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Инфекция.....</i>	<i>26</i>
<i>Занятие № 9. Методы изучения чувствительности к антибиотикам. Экспериментальный и экспресс методы.....</i>	<i>28</i>
<i>Занятие № 10. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Общая микробиология»</i>	<i>31</i>
<i>Занятие № 11. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения врожденного иммунитета.....</i>	<i>32</i>
<i>Занятие № 12. Клеточный и гуморальный иммунный ответ</i>	<i>34</i>
<i>Занятие № 13. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.....</i>	<i>39</i>
<i>Занятие № 14. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.....</i>	<i>41</i>
<i>Занятие № 15. Аллергия. Методы диагностики. Иммунопрофилактика. Методы оценки поствакцинального иммунитета</i>	<i>43</i>
<i>Занятие № 16. Клиническая иммунология. Иммунодефициты. Аутоиммунные болезни</i>	<i>48</i>
<i>Занятие № 17. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология».....</i>	<i>49</i>
<i>Занятие № 18. Зачет</i>	<i>50</i>
<i>Занятие № 19 (01). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками. Энтерококки.....</i>	<i>51</i>
<i>Занятие № 20 (02). Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Диагностика эшерихиозов. Диагностика брюшного тифа, паратифов, сальмонеллезов.....</i>	<i>54</i>
<i>Занятие № 21 (03). Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями. Диагностика дизентерии. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов, дизентерии</i>	<i>59</i>
<i>Занятие № 22 (04). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями, кампилобактериями, псевдомонадами</i>	<i>62</i>

<i>Занятие № 23 (05). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых нейссериями, бордетеллами, гемофилами, легионеллами, кокциллами</i>	68
<i>Занятие № 24 (06). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, актиномицетами, микобактериями, листериями</i>	74
<i>Занятие № 25 (07). Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций</i>	80
<i>Занятие № 26 (08). Методы микробиологической диагностики чумы, холеры, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы. Санитарная охрана территории Республики Беларусь</i>	84
<i>Занятие № 27 (09). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами</i>	91
<i>Занятие № 28 (10). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами</i>	95
<i>Занятие № 29 (11). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Частная медицинская микробиология»</i>	99
<i>Занятие № 30 (12). Общая вирусология. Методы вирусологических исследований. Бактериофаги</i>	100
<i>Занятие № 31 (13). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами</i>	103
<i>Занятие № 32 (14). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, вирусами гепатитов</i>	107
<i>Занятие № 33 (15). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых арбовирусами и вирусами с природной очаговостью</i>	111
<i>Занятие № 34 (16). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпес- и аденовирусами</i>	114
<i>Занятие № 35 (17). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами. Онкогенные вирусы. Медленные инфекции ...</i>	117
<i>Занятие № 36 (18). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Общая и частная медицинская вирусология»</i>	120
<i>Занятие № 37 (19). Основы медицинской микологии и протозоологии. Микробиологическая диагностика микозов и протозойных инвазий</i>	121
<i>Литература</i>	124
<i>Приложение 1. Классификация бактерий</i>	125
<i>Приложение 2. Классификация вирусов человека и животных</i>	127
<i>Приложение 3. Классификация грибов</i>	129
<i>Приложение 4. Классификация простейших</i>	131
<i>Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Республики Беларусь</i>	133
<i>Приложение 6. Критерии оценки знаний студентов</i>	134
<i>Приложение 7. Рейтинговая система оценки знаний студентов</i>	135

Учебное издание

Канашкова Татьяна Александровна
Горбунов Владимир Анатольевич
Кочубинский Валентин Витальевич и др.

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум

2-е издание, переработанное

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор В. В. Кочубинского
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 19.11.15. Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Ризография. Гарнитура «Calibri».
Усл. печ. л. 16,27. Уч.-изд. л. 7,9. Тираж 120 экз. Заказ 3.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.