№ ЛД-21

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)

Кафедра микробиологии

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

по дисциплине - микробиология, вирусология, иммунология

основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы специалитета по специальности 31.05.01 Лечебное дело, утвержденной 30.03.2022 г.

Составитель: Черткоева Майя Гивиевна

Владикавказ, 2022

ПЕРЕЧЕНЬ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ:

1. Учебно-методические пособия для студентов по специальности «Лечебное дело» (часть 1).
2. Учебно-методические пособия для студентов по специальности «Лечебное дело» (часть 2).
3.Учебно-методические пособия для преподавателей по специальности «Лечебное дело» (часть 1).
4. Учебно-методические пособия для преподавателей по специальности «Лечебное дело» (часть 2).
5.Тестовые задания для студентов лечебного факультета по общей микробиологии.
6. Тестовые задания для студентов лечебного факультета по частной микробиологии.

№ ЛД-21

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

ВЕСЕННИЙ СЕМЕСТР

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в весеннем семестре. Указания составлены в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом Высшего и профессионального образования.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:
Л.В. Бибаева -д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.
А.Р. Кусова-д.м.н., профессор зав. кафедрой общей гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Методические рекомендации утверждены на заседании ЦКУМС ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России от 22.03.2022г., протокол № 4

Практическое занятие №1.

Тема: Морфология микробов. Микроскопический метод исследования.

Учебная цель:
1. Изучить морфологию отдельных представителей бактерий.
2. Освоить технику микроскопирования.
3. Освоить простой метод окраски микроорганизмов.

Студент должен знать:
1. Устройство и оборудование микробиологической лаборатории, режим работы и назначение.
2. Классификацию бактерий.
3. Строение микроскопа.
4. Методы микроскопического исследования.
5. Технику микроскопического исследования.

Студент должен уметь:
1. Приготовить мазок из чистой культуры, окрасить простым способом.
2. Микроскопировать с иммерсионной системой.

План занятия:

1. Знакомство с правилами работы и основами техники безопасности в микробиологической лаборатории.
2. Устройство и оборудование микробиологической лаборатории, режим работы и назначение.
3. Классификация бактерий.
4. Морфология бактерий, методы изучения (световая, темнопольная, фазовоконтрастная, электронная микроскопия).
5. Этапы приготовления мазка.
6. Простой метод окраски бактерий.
7. Приготовление мазков из культуры стафилококка и кишечной палочки, окраска простым методом.
8. Демонстрация препаратов из микрококков, диплококков, тетракокков, сарцин, стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, бацилл, вибрионов.

Самостоятельная работа студентов

1. Приготовление мазка и окраска простым методом (под руководством преподавателя).
2. Освоение техники микроскопирования. Микроскопическое изучение морфологии бактерий:
3. Просмотр демонстрационного мазка из чистой культуры стафилоккока (Staphylococcus aureus). Окраска генциан-виолетом.
4. Просмотр демонстрационного мазка из чистой культуры кишечной палочки (E. coli). Окраска — водным фуксином.
5. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

1. Техника приготовления мазков.

Мазки готовят на обезжиренных предметных стеклах, предварительно обрисовав карандашом по стеклу место будущего мазка с противоположной стороны предметного стекла. При росте бактерий на жидкой питательной среде, материал берут стерильной бактериальной петлей, наносят на стекло и растирают над очерченной площадкой. В случае роста бактерий на плотной питательной среде, на предметное стекло предварительно наносят петлей каплю воды и материал растирают.

2. Бактериальную петлю перед использованием с оставшейся культурой стерилизуют в пламени горелки. Приготовленный мазок высушивают на воздухе или держа высоко над пламенем спиртовки.

3. После этого препарат фиксируют, для чего мазок стороной, где нет материала, троекратно проводят через середину пламени горелки. Фиксация позволяет убить микробы, прикрепить их к стеклу и, наконец, убитые микробы окрашиваются лучше, чем живые.

2. Техника простых методов окраски

Окраска бактерий преследует цель сделать их резко отличными от фона, что позволяет изучить под микроскопом их морфологию и структуру. В микробиологии используют простые и сложные методы окраски препаратов.

При ПРОСТОМ СПОСОБЕ окраски, мазок окрашивают каким-либо одним красителем, например, водным фуксином (2-3 мин.) или метиленовой синью (2-3 мин.), промывают водой, высушивают и микроскопируют.

3. Техника микроскопирования

В связи с очень малыми размерами бактерий изучение их морфологии возможно только при большом увеличении, достигаемом при помощи иммерсионного масла, которое позволяет создать единую систему между предметным стеклом и особым, х 90- кратным (с черной полоской) объективом.

При микроскопии окрашенных объектов необходимо создать яркое освещение с помощью вогнутого зеркала, поднятого конденсора и полностью открытой диафрагмы.

Каплю иммерсионного масла наносят на область мазка на стекле, лежащем на столе. Затем стекло переносят на столик микроскопа. Иммерсионный объектив погружают в масло осторожно, под контролем глаза до явного контакта объектива с маслом. Затем объектив поднимают, не выводя из капли масла и глядя в окуляр для нахождения объекта исследования («поля зрения»). Четкое изображение препарата достигается регулировкой сначала макровинтом (для обнаружения объекта), а затем микровинтом для регулировки резкости изображения.

Морфология основных форм бактерий

Известны четыре основные формы бактерий:

1. Кокки- микробы округлой формы, имеющие в диаметре 1-2ц. Они отличаются между собой по взаимному расположению отдельных клеток, которое зависит от способа их деления. Если по окончании деления кокки разъединяются на отдельные шарики, получаются одиночные клетки кокков -Micrococcus.
2. Группа из двух кокков носит название диплококка -Diplococcus (менингококк, гонококк имеют сходство с бобами, и ланцетовидную форму — пневмококк).
3. Если деление кокков происходит лишь в одном направлении и образующиеся кокки не разъединяются, то получается нить из шариков в виде цепи, более или менее длинной в зависимости от числа кокков- Streptcoccus.
4. При делении в двух взаимно перпендикулярых направлениях возникают сочетания по четыре кокка-Tetracoccus.
5. Если деление происходит в трех взаимно перпендикулярных направлениях, кокки соединяются в виде пакетов (кубиков) и получают название — Sarcina.
6. Делясь в различных направлениях без особой правильности, кокки образуют беспорядочные скопления клеток, напоминающие виноградные грозди, почему они и получили название Staphylococcus.

Палочковидные микроорганизмы представлены самой многочисленной и разнообразной группой бактерий. В классификации палочковидных форм принято именовать бациллами и клостридиями те палочки, которые способны образовывать споры, а палочки неспособные к спорообразованию, называются бактериями. Палочковидные формы различаются по величине, расположению — поодиночке, парами, цепочкой, беспорядочно и под углом. Очертанию концов — закругленные, обрубленные, утолщенные, заостренные.

Извитые формы-спириллы и спирохеты имеющие вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относятся возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). К извитым также относятся кампилобактерии, имеющие изгибы как у крыла летящей чайки.

Спирохеты — тонкие, длинные, изогнутые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Спирохеты представлены тремя родами патогенными для человека: Treponema, Borrelia, Leptospira.

Методы диагностики инфекционных заболеваний

1. *Микроскопический метод* заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, электронная). В бактериологии микроскопический метод получил название бактериоскопический, в вирусологии — вирусоскопический.

2. *Культуральный метод* заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название бактериологического, а в вирусологии – вирусологического.

3. *Биологический метод* (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, определение активности антимикробных химиотерапевтических препаратов.

4. *Серологический метод* — заключается в определении титра антител в сыворотке крови больного, реже — в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале. С этой целью используются реакции иммунитета.

5. *Аллергический метод* заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат — аллерген. С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответственными аллергенами.

Объект изучения медицинских микробиологических лабораторий — патогенные биологические агенты — патогенные для человека микроорганизмы (вирусы, бактерии, грибы, простейшие). В соответствии с типами микроорганизмов выделяют: бактериологические, вирусологические, микологические, протозоологические лаборатории. Регламентация условий работы с возбудителями инфекционных заболеваний произведена в соответствии со степенью опасности микроорганизмов для человека. Выделяют четыре группы возбудителей.

Группа 1: возбудители особо опасных инфекций: чума, натуральная оспа, лихорадки Ласса, Эбола.

Группа 2:возбудители высококонтагиозных бактериальных грибковых и вирусных инфекций: сибирская язва, холера, лихорадка, сыпной тиф, бешенство.

Группа 3: возбудители бактериальных грибковых, вирусных и протозойных нозологических форм (коклюш, малярия, полиомиелит, лейшманиозы).

Группа 4: возбудители бактериальных, вирусных, грибковых заболеваний (синегнойной инфекции, амебиаза, аспергиллеза).

Микробиологические лаборатории работают с ПБА с возбудителями особо опасных инфекций (группа 1и 2). Особый режим максимально изолированные индивидуальным и общественным риском.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ

Укажите один правильный ответ:

1. С именем какого ученого связано открытие сущности брожения (1857), микробной обусловленности и заразности инфекционных болезней (1881), методов изготовления вакцин и способов профилактики куриной холеры, сибирской язвы и бешенства (1882-1885)?
а) Левенгук
б) Мечников
в) Кох
г) Пастер

2. Микроб — это:
а) доклеточное живое существо;
б) организм определённого вида;
в) одноклеточное существо, невидимое невооружённым глазом;
г) инфекционная белковая частица;
д) одноклеточный организм.

3. Бактерия — это:
а) вирус;
б) одноклеточное существо определённого вида, относящееся к прокариотам;
в) одноклеточное существо определённого вида, относящееся к эукариотам;
г) организм определённого вида;
д) одноклеточный организм.

4. Бациллы — это:
а) кокки, образующие споры;
б) палочки, не образующие спор;
в) палочки, образующие споры;
г) извитые формы.

5. Живой может считаться система, способная к:
а) обмену веществ с окружающей средой;
б) сохранению своей структурной организации;
в) умножению своих структурных компонентов;
г) воспроизведению и реализации генетической программы;
д) метаболизму.

Практическое занятие №2.

Тема: Морфология микробов. Микроскопический метод исследования. Контрольное занятие.

Учебная цель:

1. Изучить отдельные структуры прокариотической клетки.
2. Освоить сложные методы окраски микробов.

Студент должен знать:

1. Особенность строения бактериальной клетки.
2. Функциональное значение различных компонентов прокариотической клетки.
3. Сложные методы окраски (Грама, Циля-Нельсена, Ожешко, Бурри -Гинса, Нейссера).

Студент должен уметь:

1. Приготовить мазок с чистой культуры бактерий E. coli, S. aureus и окрасить по методу Грама.
2. Микроскопировать мазок.
3. Уметь приготовить препараты «висячей» и «раздавленной» капли.

План занятия:

1. Строение и химический состав бактериальной клетки.
2. Особенности строения бактериальной клетки.
3. Сложные методы окраски, цели их использования (методы Грама, Циля-Нельсена, Ожешко, Гинса-Бурри, Нейссера).
4. Демонстрация окрашенных препаратов по методам Грама, Бурри-Гинса, Нейссера, Ожешко, Цилю-Нильсену.
5. Изучение подвижности бактерий, приготовление препаратов «висячая» и «раздавленная» капля.

Самостоятельная работа студентов

1. Приготовить смешанный мазок из чистых культур стафилококка и кишечной палочки. Окраска водным фуксином.
2. Приготовить смешанный мазок из чистой культуры стафилококка и кишечной палочки. Окраска по Граму.
3. Приготовить препараты «висячая» и «раздавленная» капля.
4. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Техника сложных методов окраски

Сложные способы окраски включают последовательное нанесение на препарат красителей, различающихся по химическому составу и цвету, протрав и дифференцирующих веществ. Это позволяет предварительно дифференцировать микробы *(дифференциально-диагностические способы)* и выявлять определенные структуры клеток *(специальные способы)*.

1. Способ окраски по Граму

Окраска по Граму является важным диагностическим признаком идентификации бактерий. В результате окраски по Граму все бактерии делятся на две группы; грам-положительные (синего цвета) и грам-отрицательные (красного цвета).

Техника окраски по методу Грама

1.Фиксированный мазок кладут на бактериологический мостик и покрывают полоской фильтровальной бумаги, пропитанной раствором генциан -виолета на бумажную полоску наносят воду. Через 2 минуты полоску удаляют.

2. Не промывая препарат водой, наносят раствор Люголя на 1 минуту. Затем раствор сливают.

3. Препарат обесцвечивают спиртом 20-30 секунд (до отхождения фиолетовых струек краски).

4. Препарат промывают водой.

5. Окрашивают водным фуксином — 2 минуты.

6. Препарат промывают водой.

7. Высушивают на воздухе или фильтровальной бумагой.

2. Способ окраски по Цилю-Нельсену

Применяется для обнаружения некоторых микробов, богатых липидам (например, возбудитель туберкулеза, лепры и др.)

1. Для окрашивания используют концентрированный раствор карболового фуксина Циля. С целью улучшения проникновения красителя в клетку препарат с наложенной на него

полоской фильтровальной бумаги и красителем подогревают над пламенем горелки троекратно до появления пара.
2. Затем препарат обесцвечивают 5% раствором серной кислоты, предварительно удалив фильтровальную бумагу.
3. Промывают водой.
4. Докрашивают метиленовым синим в течении 3-5минут.
5. Препарат промывают водой.
6. Высушивают на воздухе или фильтровальной бумагой.

Обесцвечивание кислотой приводит к потере красителя кислотоподатливыми микробами, и они окрашиваются в синий цвет. Кислотоустойчивые микробы остаются красными.

3.Способ окраски по Бурри-Гинсу

1. Смешивают каплю культуры капсульных бактерий с каплей туши на конце предметного стекла. Затем готовят мазок как обычно его готовят из капли крови.
2. Мазок высушивают на воздухе и фиксируют в пламени горелки.
3. Для обнаружения бактерий мазок окрашивают водным фуксином.

При этом способе окраски бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются как ободок на черно-коричневом фоне вокруг бактерий.

4.Способ окраски по методу Нейссера

1. На фиксированный мазок наносят синьку Нейссера2-3 мин.
2. Не промывая водой, наносят раствор Люголя 10-30сек.
3. Мазок промывают водой.
4. Докрашивают раствором везувина — 1 мин.

В культуре дрожжеподобных грибов много зерен волютина. Они представляют собой соединения, имеющие, в отличие от цитоплазмы, щелочную реакцию и потому окрашиваются в темно-синий цвет. Цитоплазма клетки, обладающая кислой реакцией, воспринимает щелочной краситель везувин и окрашивается в желтый цвет.

5.Способ окраски по методу Ожешко

1. На нефиксированный мазок наносят 0,5% раствор HCI и подогревают на пламени горелки в течение 2 мин. До появления паров.
2. Препарат промывают водой, высушивают и фиксируют.
3. Докрашивают по методу Циля-Нельсена.

Споры бактерий после данной окраски приобретают красный цвет, а тело бактерий-синий.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ

1. Если условно выбирать три главных функционально-структурных компонента бактерий, то это будут:
а) ядро, цитоплазма, оболочка;
б) ДНК, цитоплазматическая мембрана, включения;
в) клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, ядро;
г) оболочка, цитоплазма, ДНК;
д) рибосомы, цитоплазма, ядро.
2. В отличие от эукариотических клеток бактерии имеют:
а) гаплоидный набор хромосом;
б) диплоидный набор хромосом;
в) клеточный центр;
г) гистоновые белки.
3. Структурно цитоплазматическая мембрана бактерий отличается от мембран других живых существ тем, что:

а) является трёхслойной;
б) в её состав входит холестерин;
в) способна формировать эндоплазматическую сеть;
г) способна формировать мезосому;
д) способна формировать веретено деления.

4. Жёсткость структуры бактериальной клетки обеспечивается:
а) капсулой;
б) клеточной стенкой;
в) цитоплазматической мембраной;
г) жгутиками;
д) пилями.

5. Форма бактерий определяется строением её:
а) пилей;
б) цитоплазматической мембраной;
в) клеточной стенкой;
г) всех трёх компонентов;
д) неизвестно науке.

Практическое занятие №3

Тема: Влияние физических факторов окружающей среды на жизнедеятельность микробов.

Учебная цель:
1.Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
2.Изучить методы контроля эффективности стерилизации.

Студент должен знать:
1.Методы стерилизации
2.Механизм действия стерилизующих факторов на молекулярную структуру микроорганизмов.
3.Понятия контаминации и деконтаминации, дезинфекции и стерилизации, асептики и антисептики.
4.Современные технологии стерилизации и аппаратуру.
5.Способы контроля эффективности стерилизации и дезинфекции
6.Контроль качества стерилизации.

Студент должен уметь:
1.Оценить эффективность стерилизации и дезинфекции.

План занятия:

1. Методы стерилизации: физические, химические, биологические, механические.
2. Устройство и применение печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
3. Стерилизация различных лекарственных средств в зависимости от их природы, формы, лабильности к физическим фактором.
4. Контроль качества стерилизации.
5. Понятие об асептике, антисептике и дезинфекции.
6. Антисептики и дезинфектанты.
7. Принципы контролирования качества дезинфекции.
8. Демонстрация антисептических и дезинфицирующих средств.

Самостоятельная работа студентов:

1. Провести и учесть результаты опыта по определению действия высокой температуры (80°С) на спорообразующие (антракоид) и аспорогенные (кишечная палочка и стафилококк) микроорганизмы.

- Заполнить протокол по форме:

Учет роста культуры	Стафилококк	Кишечная палочка	Антракоид
до прогревания			
после прогревания			

Вегетативные формы патогенных микроорганизмов погибают при 50-60^{0}С в течении 30 минут, а при температуре 70^0 С в течении 5-10 минут. Споры бактерий обладают большей устойчивостью к высоким температурам, что объясняется содержанием в них воды в связанном состоянии, большим содержанием солей кальция, липидов и плотностью, многослойностью оболочки. Следовательно, стафилококк и кишечная палочка после прогревания погибают, а споры антракоида выживают. Это и надо учитывать в оценке результатов посева.

- Заполнить самостоятельно таблицу:

№	Способ стерилизации	Аппарат	Надёжность	Стерилизуемый материал
1.	Стерилизация в пламени			
2.	Плазменная Стерилизация			
3.	Сухой жар			
4.	Паром под давлением			
5.	Текучим паром			
6.	Тиндализация			
7.	Фильтрование			
8.	Физические факторы (УФЛ, гамма-лучи, ультразвук)			
9.	Газовая стерилизация			
10.	Пастеризация			

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

СТЕРИЛИЗАЦИЯ

Стерилизация-это обеспложивание, т. е. полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

Стерилизацию производят различными способами:

1. **Физическими** (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, повышенного давления, пара, гамма-лучей, ультразвука).
2. **Химическими** (использование различных дезин-фектантов, антисептиков).
3. **Биологическим** (применение антибиотиков).
4. **Механическими** (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использование того или иного способа стерилизации обусловлена особенностями материала, подлежащего стерилизации, его физическими и химическими свойствами.

К *физическим* способам стерилизации можно отнести прокаливание в пламене, стерилизацию сухим жаром в печи Пастера, кипячение, стерилизацию текучим паром в аппарате Коха, паром под давлением в автоклаве, тинда-лизацию, пастеризацию, стерилизацию УФЛ, ультразвуком.

Механическая стерилизация осуществляется фильтрованием с помощью бактериальных фильтров, изготовленных из различных мелкопористых материалов, поры фильтров должны быть достаточно мелкими, чтобы обеспечить механическую задержку бактерий. Этим методом стерилизуют питательные среды, содержащие белок, сыворотки, антибиотики; отделяют бактерии от вирусов, фагов, экзотоксинов.

В микробиологической практике используют асбестовые фильтры Зейтца, мембранные фильтры (свечи) Шамберлана и Беркефельда.

а) *фильтры Зейтца* — диски из смеси асбеста с целлюлозой, толщина их 3-5мм, диаметр 35-140мм;

б) *мембранные* фильтры -из нитроцеллюлозы, толщиной 0,1 мм и диаметром 35мм. В зависимости от размера пор обозначают 1,2,3,4,5;

в) *свечи Шамберлана и Беркефельда* — полые цилиндры, закрытые с одного конца, готовят их из каолина с примесью песка и кварца.

Химические способы стерилизации применяют ограниченно, но они служат для предупреждения бактериального загрязнения питательных сред и иммунобиологических препаратов (вакцин и сывороток).

Биологическая стерилизация основана на применении антибиотиков, иногда фагов.

Дезинфекция — использование химических веществ (фенол, лизол, хлорамин, перекись водорода, сулема, спирт, и т. д.) для уничтожения патогенных бактерий в отработанном патологическом материале.

Систематизация приборов, процессов обработки и средств для дезинфекции и стерилизации

Классификация инструментов	Основные типы инструментов	Характер обработки и виды воздействий
Критические - проникают в стерильные ткани или сосуды	Все инвазивные хирургические инструменты, имеющие контакт с кровоснабжаемыми тканями, скальпели, иглы шприцов, импланта-ты, боры, корневые иглы, экскаваторы, зонды, гладилки.	**Стерилизация** - вирули-цидные, спороцидные, ту-беркулоцидные, бактерицидные воздействия. **Длительная экспозиция:** гамма-лучи, плазма, длительная газовая и химическая стерилизация, автоклавиро-вание (2 атм. 15 мин), сухой жар (максим. режим, 2 часа)
Полукритические - соприкасаются со слизистыми оболочками (за исключением ряда	Гибкие эндоскопы, катетеры, инструменты аналогичные гибким эндоскопам, зеркала,	**Дезинфекция высокого уровня** - вирулицидные, спороцидные, туберкуло-цидные, бактерицидные воздействия.

стоматологических инструментов, перечисленных выше)	коронки, наконечники турбин, а также оттиски (слепки) зубов.	**Кратковременная экспозиция:** гамма-лучи, плазма, кратковременная газовая и химическая стерилизация, автоклавирование (1-1,5 атм. 15 мин), сухой жар.
	Термометры для измерения температуры слизистой оболочки, ванны для гидротерапии.	**Дезинфекция среднего уровня:** вирулицидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия.
	УЗ-ванночки и УФ-лампы стоматологов, физиотерапевтические инструменты, ложки для слепков.	**Средства для химической дезинфекции с** указанием на маркировке туберкулоцидной активности.
Некритические соприкасаются с неповрежденной кожей	Термометры для измерения температуры кожных покровов, стетоскопы, манжетки аппаратов для измерения давления, настольные приборы и т. п.	**Дезинфекция уровня:** бактерицидные воздействия. **Средства для химической дезинфекции** без указания на маркировке наличия туберкулоцидной активности.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите правильные ответы:

1. Что такое стерилизация?
а) полное обеспложивание объектов от всех видов микробов и их спор
б) уничтожение патогенных микроорганизмов
в) уничтожение вегетативных форм микроорганизмов
г) предотвращение попадания микроорганизмов в рану
д) уничтожение на объектах конкретных видов микробов
2. Какие факторы используются при автоклавировании?
а) температура
б) фильтры
в) пар
г) давление
3. Какие факторы используются в печи Пастера?
а) давление
б) пар
в) сухой жар
г) антибиотики
4. К физическим методам стерилизации относятся:
а) ультразвук
б) ультрафиолетовые лучи
в) антибиотики
г) фильтрование
д) паровая стерилизация
е) сухожаровая стерилизация

5. Перечислите способы стерилизации, освобождающие объект от споровых форм микробов:
а) облучение ультрафиолетом
б) автоклавирование

в) пастеризация
г) сухим жаром
д) гамма-облучение

Практическое занятие №4.

Тема: Физиология микробов. Бактериологический метод исследования.

Учебная цель:

1. Освоить бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
2. Изучить типы питания бактерий, принципы культивирования микроорганизмов, классификацию питательных сред.
3. Изучить методику получения чистых культур бактерий из исследуемого материала.

Студент должен знать:

1. Принципы культивирования микроорганизмов.
2. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
3. Питательные среды, требования, предъявляемые к питательным средам
4. Классификация питательных сред, состав и приготовление.

Студент должен уметь:

1. Выполнить первый этап выделения чистой культуры аэробных бактерий.

План занятия:

1. Питание бактерий: типы, механизмы поступления питательных веществ в микробную клетку.
2. Принципы культивирования микроорганизмов.
3. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
4. Питательные среды: требования, предъявляемые к питательным средам; классификация, состав, приготовление.
5. Демонстрация питательных сред.
6. Посев исследуемого материала (взвеси микроорганизмов) на МПА методом Дригальского (1 этап).

Самостоятельная работа студентов:

1. Посев исследуемого материала по методу Дригальского.
2. Ознакомление с приготовлением питательных сред.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Микробиологическое исследование проводится с целью выделения чистых культур микроорганизмов, культивирование и изучения их свойств. Оно необходимо при диагностике инфекционных болезней, для определения видовой принадлежности микробов, в исследовательской работе, для получения продуктов жизнедеятельности микробов (токсинов, антибиотиков, вакцин и т. п.). Для выращивания микроорганизмов в искусственных условиях необходимы особые субстраты — питательные среды. Они являются основой микробиологической работы и определяют результаты всего исследования. Среды должны создавать оптимальные условия для жизнедеятельности микробов.

ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЬЯВЛЯЕМЫЕ К СРЕДАМ:

1. Должны быть питательными, т. е. содержать в легкоусвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей микроорганизмов.
2. Иметь оптимальную концентрацию водородных ионов.
3. Быть изотоничными для микробной клетки.
4. Быть стерильными.
5. Быть влажными.
6. Обладать определённым окислительно-восстановительным потенциалом.
7. Быть по возможности унифицированными.

Потребность в питательных веществах и свойствах среды у разных видов микроорганизмов неодинакова. Это исключает возможность создания универсальной среды. Кроме того, на выбор той или иной среды влияют цели исследования.

Группа классификации	Класс	Примеры
По составу	***Простые***	*Жидкие — МПБ, пептон-ная вода Плотные — МПА*
	Сложные	*Жидкие — сахарный бульон Плотные — сахарный агар, кровяной агар*
По происхождению	***Естественные***	*Молоко, свёрнутая сыворотка, срез сырого картофеля*
	Искусственные	*Молочно-солевой агар Сывороточный агар Асцит-агар Кровяной агар*
	Синтетические	*Среда Игла, среда 199*
По назначению	***Селективные (элективные)*** *-для стафилококка:* *-для грам(-) кокков и дифтероидов:* *-для энтеробактерий:* *-для холерного вибриона:* *-для лактобацилл и грибов* ***Дифференциально-диагностические*** ***Универсальные*** ***Среды обогащения*** ***Консервирующие***	*Молочно-солевой агар, жел-точно-солевой агар Сывороточные среды Среды с солями теллура Среды с солями желчных кислот Пептонный бульон и щелочной агар Томат-агар, рисовый агар, агар Сабуро* *Эндо, Плоскирева, Левина, Ресселя, Гисса* *МПБ, МПА, кровяной агар* *Среда Мюллера* *Среды с глицерином*
По консистенции	***Жидкие*** ***Полужидкие*** ***Плотные***	*МПБ, пептонная вода, сахарный МПБ* *МПЖеле, желатиновая* *МПА, кровяной агар*

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите правильные ответы:
1. Какие питательные среды являются простыми?
а) среда Эндо;
б) МПА;
в) кровяной агар;
г) МПБ;
д) пептонная вода.
2. Плотность питательных сред зависит от содержания в них:
а) хлорида натрия;
б) пептона;
в) агар-агара;
г) сахарозы;
д) сыворотки крови.
3. На 1 этапе бактериологического метода исследования решаются следующие задачи:
а) идентификация чистой культуры микробов;
б) определение чувствительности к антибиотикам;
в) получение изолированных колоний;
г) определение вида микроба;
д) получение чистой культуры.

4.Преимущественный рост одних видов микробов при одновременном подавлении других можно получить на следующих видах питательных сред:
а) селективных (элективных);
б) простых;
в) сложных;
г) консервирующих;
д) дифференциально-диагностических;
е) универсальных.
5. В понятие «культуральные свойства» микроба входит:
а) характер роста на питательных средах;
б) макроскопическая характеристика колоний;
в) морфология микробных клеток при микроскопии;
г) ферментация углеводов на средах Гисса;
д) цвет пигмента колоний или культуры;
е) отношение возбудителя к окраске по Граму.

Практическое занятие №5.

Тема: Физиология микробов. Выделение чистых культур аэробов и анаэробов..

Учебная цель:
1. Освоить методы выделения чистых культур аэробов.
2. Изучить типы дыхания бактерий, способы создания условий анаэробиоза.
3. Освоить методы выделения чистых культур анаэробов.

Студент должен знать:
1.Принципы культивирования микроорганизмов.
2.Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
3.Питательные среды для культивирования анаэробов

Студент должен уметь:
1. Выполнить второй этап выделения чистой культуры аэробных бактерий.

План занятия:

1. Типы дыхания бактерий.
2. Способы создания условий анаэробиоза.
3. Методы выделения чистой культуры аэробов и анаэробов.
4. Посев почвенной болтушки на среду Китта-Тароцци.
5. Питательные среды для анаэробов, методы культивирования и выделение чистой культуры анаэробов.
6. Изучение культуральных свойств бактерий.
7. Изучение колоний, выросших на чашках, засеянных методом Дригальского.
8. Посев микроорганизмов из изученной колонии на скошенный агар для получения чистой культуры (2 этап).
9. Демонстрация пигментообразования бактерий.
10. Демонстрация характера роста бактерий на плотных и жидких питательных средах.

Самостоятельная работа студентов

1.Завершение 1-го этапа бактериологического метода. Изучение культуральных свойств бактерий.
2.Из выросших колоний на МПА приготовить мазок, окрасить по Граму.
3. Посев из исследуемых изолированных колоний на скошенный агар для накопления чистой культуры.
4. Демонстрация техники анаэробного культивирования и сред для анаэробов: высокий столбик агара, среда Китта-Тароцци, тиогликолевая, Стюарта. Демонстрация микроанаэростата. Способы: Фортнера, Вейнберга.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Дыхание бактерий. Классификация бактерий по типу дыхания.

Сущность дыхания у микрорганизмов — получение энергии, образующейся в процессе прямого биологического окисления веществ кислородом или путем дегидрирования субстрата. Накопление энергии происходит в специальных структурах бактерий, называемых мезосомами.

В соответствии с потребностями в кислороде бактерии подразделяют на следующие основные группы:

1. Облигатные (строгие) аэробы- микроорганизмы, которые растут и размножаются только в присутствии кислорода. Например: Vibrio cholerae Pseudomonas aeriqinoza.

2. Облигатные анаэробы — микроорганизмы, которые растут и размножаются только без доступа кислорода. Например: Clostridum botulinum, Clostridium te tani.

3. Факультативные анаэробы — микроорганизмы, которые могут расти и размножатся как в присутствии кислорода, так и в бескислородных условиях. Например: Escherichia coli, Salmonella typhi.

4. Микроаэрофилы бактерии — микрорганизмы, которые лучше растут и размножаются при повышенном содержании CO_2 и низком содержании кислорода. Например: Helicobacter pylori, Campylobacter coli.

Методы культивирования анаэробов

Способы создания анаэробных условий

а) механический — удаление (откачивание) воздуха из анаэростата с помощью вакуумного отсоса. Затем анаэростат заполняют газовой смесью, которая состоит из 80% азота, 10% водорода и 10% углекислого газа;

б) химический — поглощение кислорода за счет химических веществ (щелочной раствор пирогаллола, двууглекислая сода);

в) биологический (метод Фортнера) — совместное культивирование анаэробов и аэробов. При этом на одну чашку Петри с плотной питательной средой (чаще используют среду Цейсслера) засевают культуру анаэробов, на другую — культуру аэробов, способных энергично поглощать кислород. В качестве аэробов используют культуру чудесной палочки (Serratia marcescens). Края чашки Петри парафинируют;

г) физико-химический — посев исследуемого материала на специальные среды для анаэробов, например, среды Китта-Тароцци и Вильсона-Блера (железо-сульфитный агар). Среды перед посевом регенерируют (кипятят на водяной бане в течение 15минут) для удаления кислорода.

Состав среды Китта-Тароцци:

-кусочки печени — для адсорбции кислорода;

-1% глюкозы — для осуществления анаэробного гликолиза;

-полужидкий агар — не допускает кислород в толщу среды.

Получение чистой культуры анаэробов

1. Метод Вейнберга (методразведений)

Для получения изолированных колоний анаэробов из среды Китта-Тароцци с ростом анаэробных бактерий забирают культуру пастеровской пипеткой с запаянным концом и последовательно опускают эту пипетку вначале в 3 пробирки с физиологическим раствором, а затем — 3 пробирки с растопленным полужидким сахарным МПА. После термостатирования при 37^0С в последних наблюдается рост изолированных колоний анаэробов.

2. Метод Перетца.

Одно из последних разведений по Вейнбергу в полужидком агаре выливают в крышку чашки Петри и закрывают ее дном так, чтобы удалить воздух. Края чашки Петри парафинируют. Посев исследуемого материала на среду Цейсслера секторами с последующим культивированием в анаэроста.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ

Укажите все правильные ответы:

1. Для культивирования анаэробов без анаэростата используется среда:

а) кровяной агар;

б) желточно-солевой агар;

в) Эндо;

г) Китта-Тароцци;

д) Клауберга.

2. При анаэробном типе дыхании у бактерий отсутствует группа ферментов:

а) дегидрогеназ;

б) флавопротеинов;

в) цитохромоксидаз;

г) децитиназ;

д) нуклеаз.

3. Конечным акцептором электронов при аэробном типе дыхания у бактерий является:

а) молекулярный кислород;

б) неорганические соединения;

в) органические соединения;

г) одновременно органические и неорганические соединения;

д) митохондриальные белки.
4.Среда тиогликолевая служит для выделения:
а) облигатных аэробов;
б) облигатных анаэробов;
в) факультативных аэробов;
г) факультативных анаэробов;
5.Среда Китта-Тароцци служит для выделения:
а) облигатных аэробов;
б) облигатных анаэробов;
в) факультативных аэробов;
г) факультативных анаэробов;

Практическое занятие №6.

Тема: Физиология микробов. Принципы культивирования и идентификации микробов.

Учебная цель: Освоить бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.

Студент должен знать:
1. Этапы бактериологического метода диагностики.
2. Идентификацию чистой культуры по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам.
3. Питательные среды для изучения ферментативной активности.
4. Бактериофаги и их применение.
5. Классификацию ферментов.

Студент должен уметь:
1. Сделать посев исследуемого материала на среды Гисса и МПБ.
2. Определять антибиотикочувствительность методов стандартных дисков.
3. Проверить чистоту выделенной культуры.

План занятия:
1. Ферменты, классификация. Ферменты, расщепляющие углеводы, белки, жиры, ферменты патогенности. Питательные среды, используемые для изучения ферментативной деятельности микроорганизмов.
2. Проверка чистоты выделенной культуры макро- и микроскопически.
3. Идентификация чистой культуры бактерий по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, фаголизабельным свойствам (3 этап).
4. Бактериофаги, их применение для идентификации бактерий.
5. Определения антибиотикочувствительности методом стандартных дисков.

Самостоятельная работа

1. Приготовление мазка, окраска по Граму.
2. Посев культуры на среды Гисса и МПБ.
3. Определение антибиотикочувствительности.
4. Демонстрация питательных сред для изучения ферментативной активности микроорганизмов.
5. Демонстрация феномена бактериофагии на плотных и жидких питательных средах.

6. Демонстрация выделения чистой культуры подвижных микроорганизмов по методу Шукевича.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

III этап исследования. Через 24 часа на скошенном МПА обнаружен однородный рост в виде сплошного налета желтоватого цвета. С целью проверки чистоты выделения культуры из пробирки приготавливают мазок, окрашивают по Граму и микроскопируют. Для оценки чистоты культуры необходимо просматривать не менее 10 полей зрения. Нахождение в мазках со скошенного МПА только гроздьевидно расположенных грамположительных кокков, свидетельствует о чистоте выделенных культур.

Для определения биохимических бактерий производят посев выделенной культуры в среды цветного ряда (глюкоза, лактоза, маннит, сахароза, мальтоза и в МПБ для определения индола и сероводорода), или определяют эти свойства с помощью Системы Индикаторных Бумажных дисков (СИБ).

Посевы помещают в термостат при температуре 37°С на 24 часа.

ферменты бактерий

Ферменты являются высокоспецифичными биологическими катализаторами, без которых невозможны жизнь и размножение. Большое количество реакций, происходящих при жизни бактериальной клетки, указывает на существование у бактерий значительного количества ферментов. Ферменты — вещества белковой природы с большим молекулярным весом. Некоторые из них относятся к протеинам, другие являются сложными белками. Они построены из двух частей белка и небелковой части, называемой простетической группой. В состав ее могут входить витамины. нуклеотиды, атомы железа и пр. Связь между белковой частью фермента и го простетической группой может быть прочной и непрочной. При наличии непрочной связи в растворах наступает диссоциация фермента и при этом может освобождаться свободная простетическая группа.

Легко диссоциирующие иростетические группы ферментов называются коферментами. Обычно ферменты подразделяются на следующие основные группы:

1. Оксидоредуктазы. все ферменты, катализирующие окислительно восстановительные реакции.
2. Трансферазы. катализирующие перенос тех или иных групп (например аминогрупп, фосфатных остатков и т. д.
3. Гидролазы, расщепляющие путем гидролиза Гт или иные соединения; к этому классу относятся также фосфатазы и дезампназы — ферменты, отщепляющие соответственно гидролитическим путем фосфат или аммонийные группы от различных органических соединений.
4. Лиазы, ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путем определенные группы (например, СОг, НгО, SH2 и т. д.).
5. Изомеразы, катализирующие внутримолекулярные перестройки в субстрате.
6. Лигазы (синтетазы) — класс ферментов, катализирующих присоединение друг к другу двух молекул с одновременным разрывом ппрофосфатной связи в трифосфатах (например, образующие С — О, С — N или С — S связи).

Наиболее высокой ферментативной активностью обладают сапрофиты; в меньшей степени это свойство выражено у патогенных бактерий. Изучение ферментов патогенных бактерий имеет исключительно важное значение, так как на основании определения ферментативной активности микробов можно дифференцировать различные виды и определять природу того или иного возбудителя заболеваний. Наряду с этим ферментативная активность микробов определяет патогенез и клиническую картину инфекционного заболевания.

Ферменты дифференцируют на экзо и эндоферменты. Экзоферменты выделяются клеткой во внешнюю среду, осуществляют процессы расщепления высокомолекулярных органических соединений на более простые, доступные для ассимиляции.

Ферменты бактерий подразделяются на конститутивные и индуцибельные. К первой группе относятся те ферменты, которые синтезируются бактериальной клеткой вне зависимости от того, на какой среде бактерия выращивается. Индуцибельные ферменты продуцируются данной бактерией лишь в ответ на действие специфического индуктора, присутствующего в среде.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ

Укажите все правильные ответы:

1.Сахаролитические свойства микробов изучают на средах:
а) МПЛ, МПБ;
б) Гисса;
в) Ресселя;
г) кровяном агаре;
д) в тест-системе API;
е) в тест-системе Lachema.
2. Биохимическая активность микробов на плотных средах Гисса учитывается по:
а) изменению цвета среды;
б) образованию осадка;
в) образованию газа;
г) разрыву среды.
3.Протеолитические ферменты микробов изучаются на средах:
а) с углеводами;
б) МПБ;
в) молоком;
г) желатиной
4. Ферменты в химическом отношении содержат:
а) субстрат;
б) апофермент;
г) кофермент;
д) метаболит
5. Основные цели применения дифференциально-диагностических сред:
а) изучение биохимической активности микробов;
б) изучения культуральных свойств микробов;
в) определения чувствительности к антибиотикам;
г) дифференциация различных видов микробов;
д) транспортировка материала в лабораторию.

Практическое занятие №7
Сдача модуля по теме «Влияние на микробы физических и химических факторов. Физиология микробов. Принципы культивирования и идентификации микробов».

Учебная цель:
1. Изучить методику выделения чистых культур бактерий из исследуемого материала.

Студент должен знать:
1. Методы выделения чистых культур бактерий.

Студент должен уметь:

1.Сделать заключение по выделению чистой культуры микроорганизма.

План занятия:

1. Выделение чистой культуры аэробных и анаэробных бактерий (заключение).
2. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

IV этап исследования. Учет биохимических свойств.

глюкоза	лактоза	маннит	сахароза	мальтоза	индол	сероводород
К	К	К	К	К	+	-

- к — кислота

ВЫВОД: из смеси бактерий выделена и идентифицирована Staphelococcus spp. на основании морфологических, тинкториальных (грамположительные, гроздьевидно-расположенные кокки) и культуральных (гладкие выпуклые колонии золотистого цвета) и биохимических свойств.

Практическое занятие №8.

Тема: Общая вирусология. Методы вирусологии. Бактериофаги и фаготипирование.

Учебная цель:

1. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
2. Изучить строение и морфологию бактериофагов.

Студент должен знать:

1. Морфологию, ультраструктуру, классификацию вирусов.
2. Морфологию, ультраструктуру, классификацию бактериофагов.

Студент должен уметь:

1. Обнаруживать вирусные включения методом световой микроскопии.
2. Обнаруживать вирусные включения методом люминисцентной микроскопии.

План занятия:

1. Особенности биологии вирусов**.**
2. Принципы классификации вирусов.
3. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.
4. Морфология и строение бактериофагов, их практическое применение в медицине.
5. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

- Изучение демонстрации феномена бактериофагии на плотных и жидких питательных средах.
- Изучение демонстрации внутриклеточных включений (тельца Бабеша-Негри).

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

ВИРУСЫ

Вирусы обладают свойствами, не позволяющими применить для их изучения обычные методы микробиологического исследования.

Отличительные свойства вирусов:

1. Мельчайшие размеры, измеряемые тысячными долями микрона - миллимикронами - от 8-10 m до 300-400 m.

2. Фильтруемость через специальные мелкопористые фильтры, не пропускающие другие микроорганизмы.

3. Неклеточная структура.

4. Абсолютный паразитизм, т.е. способность жить и размножаться только в живых клетках.

Форма вирусных частиц имеет несколько типов:

1. Палочковидная
2. Сферическая (шаровидная)
3. Кубоидальная
4. Головчатая (сперматозоидообразная)
5. Нитевидная

Зрелые вирусные частицы, называемые *вирионами,* имеют следующую схему строения: в центральной части находится молекула ДНК или РНК, которая образует *нуклеоид.* Вокруг располагается защитная белковая оболочка, называемая *капсидом,* построенная из морфологических единиц, называемых *капсомерами.* Некоторые сложноустроенные вирионы имеют внешнюю оболочку, называемую *суперкапсидом.*

Для микробиологической диагностики вирусных инфекций в настоящее время применяют три основных методических подхода:

1. Вирусологическая диагностика - основана на выделении из исследуемого материала вируса и его последующей идентификации.

2. Серологическая диагностика - определение специфических иммунологических изменений в организме под действием вирусов (чаще всего с помощью диагностикумов выявляют в сыворотке крови противовирусные антитела).

3. Молекулярно-биологическая диагностика - обнаружение в клиническом материале фрагментов нуклеиновых кислот вирусов-возбудителей с помощью зондов (гибридизация НК) или ПЦР.

Отдельные вирусы, размером более 200 m , могут быть окрашены по Романовскому - Гимзе; вирусы меньших размеров (вирусы оспы) удается обнаружить только при помощи особых способов обработки.

Бактериофаги различаются по химической структуре, типу нуклеиновой кислоты, морфологии и характеру взаимодействия с бактериями. По размеру бактериальные вирусы в сотни и тысячи раз меньше микробных клеток.

Типичная фаговая частица (вирион) состоит из головки и хвоста. Длина хвоста обычно в 2 — 4 раза больше диаметра головки. В головке содержится генетический материал — одноцепочечная или двуцепочечная РНК или ДНК с ферментом транскриптазой в неактивном состоянии, окруженная белковой или липопротеиновой оболочкой — ***капсидом,*** сохраняющим геном вне клетки .

Нуклеиновая кислота и капсид вместе составляют нуклеокапсид. Бактериофаги могут иметь икосаэдральный капсид, собранный из множества копий одного или двух специфичных белков. Обычно углы состоят из пентамеров белка, а опора каждой стороны из гексамеров того же или сходного белка. Более того, фаги по форме могут быть сферические, лимоновидные или плеоморфные. Хвост представляет собой белковую трубку — продолжение белковой оболочки головки, в основании хвоста имеется АТФаза, которая регенерирует энергию для инъекции генетического материала. Существуют также бактериофаги с коротким отростком, не имеющие отростка и нитевидные.

Фаги, как и все вирусы, являются абсолютными внутриклеточными паразитами. Хотя они переносят всю информацию для запуска собственной репродукции в соответствующем хозяине, у них отсутствуют механизмы для выработки энергии и рибосомы для синтеза белка. У некоторых фагов в геноме содержится несколько тысяч оснований, тогда как фаг G, самый крупный из секвенированных фагов, содержит 480 000 пар оснований — вдвое

больше среднего значения для бактерий, хотя всё же недостаточного количества генов для важнейшего бактериального органоида как рибосомы.

Большое количество выделенных и изученных бактериофагов определяет необходимость их систематизации. Классификация вирусов бактерий претерпевала изменения: основывалась на характеристике хозяина вируса, учитывались серологические, морфологические свойства, а затем строение и физико-химический состав вириона .

В настоящее время согласно Международной классификации и номенклатуре вирусов бактериофаги, в зависимости от типа нуклеиновой кислоты разделяют на ДНК- и РНК-содержащие.

По морфологическим характеристикам ДНК-содержащие фаги выделены в следующие семейства: Myoviridae, Siphoviridae, Podoviridae, Lipothrixviridae, Plasmaviridae, Corticoviridae, Fuselloviridae, Tectiviridae, Microviridae, Inoviridae Plectovirus и Inoviridae Inovirus.

РНК-содержащие: Cystoviridae, Leviviridae

По характеру взаимодействия бактериофага с бактериальной клеткой различают вирулентные и умеренные фаги. Вирулентные фаги могут только увеличиваться в количестве посредством литического цикла. Процесс взаимодействия вирулентного бактериофага с клеткой складывается из нескольких стадий: адсорбции бактериофага на клетке, проникновения в клетку, биосинтеза компонентов фага и их сборки, выхода бактериофагов из клетки.

Первоначально бактериофаги прикрепляются к фагоспецифическим рецепторам на поверхности бактериальной клетки. Хвост фага с помощью ферментов, находящихся на его конце (в основном лизоцима), локально растворяет оболочку клетки, сокращается и содержащаяся в головке ДНК инъецируется в клетку, при этом белковая оболочка бактериофага остается снаружи. Инъецированная ДНК вызывает полную перестройку метаболизма клетки: прекращается синтез бактериальной ДНК, РНК и белков. ДНК бактериофага начинает транскрибироваться с помощью собственного фермента транскриптазы, который после попадания в бактериальную клетку активируется. Синтезируются сначала ранние, а затем поздние иРНК, которые поступают на рибосомы клетки-хозяина, где синтезируются ранние (ДНК-полимеразы, нуклеазы) и поздние (белки капсида и хвостового отростка, ферменты лизоцим, АТФаза и транскриптаза) белки бактериофага. Репликация ДНК бактериофага происходит по полуконсервативному механизму и осуществляется с участием собственных ДНК-полимераз. После синтеза поздних белков и завершения репликации ДНК наступает заключительный процесс — созревание фаговых частиц или соединение фаговой ДНК с белком оболочки и образование зрелых инфекционных фаговых частиц.

Продолжительность этого процесса может составлять от нескольких минут до нескольких часов. Затем происходит лизис клетки, и освобождаются новые зрелые бактериофаги. Иногда фаг инициирует лизирующий цикл, что приводит к лизису клетки и освобождению новых фагов. В качестве альтернативы фаг может инициировать лизогенный цикл, при котором он вместо репликации обратимо взаимодействует с генетической системой клетки-хозяина, интегрируясь в хромосому или сохраняясь в виде плазмиды. Таким образом, вирусный геном реплицируется синхронно с ДНК хозяина и делением клетки, а подобное состояние фага называется профагом. Бактерия, содержащая профаг, становится лизогенной до тех пор, пока при определенных условиях или спонтанно профаг не будет стимулирован на осуществление лизирующего цикла репликации. Переход от лизогении к лизису называется лизогенной индукцией или индукцией профага. На индукцию фага оказывает сильное воздействие состояние клетки хозяина предшествующее индукции, также как наличие питательных веществ и другие условия, имеющие место в момент индукции. Скудные условия для роста способствуют лизогенному пути, тогда как хорошие условия способствуют лизирующей реакции.

Очень важным свойством бактериофагов является их специфичность: бактериофаги лизируют культуры определенного вида, более того, существуют так называемые типовые бактериофаги, лизирующие варианты внутри вида, хотя встречаются поливалентные бактериофаги, которые паразитируют в бактериях разных видов .

Вирусы выделены в отдельное «царство»-Viга. Они содержат только один тип нуклеиновой кислоты, не имеют клеточной структуры, не имеют самостоятельного обмена веществ, являясь внутриклеточными паразитами, репродукция вирусов осуществляется разобщенным способом.

По международной классификации все вирусы подразделяются по типу нуклеиновой кислоты на 2 подтипа - РНК- и ДНК-содержащие. Дальнейшее разделение вирусов проводится на основании размеров вирусов, типа симметрии при формировании капсидов, наличия или отсутствия внешних оболочек и количества содержащихся в них капсомеров.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ является основным и наиболее достоверным, позволяет выделить вирус из исследуемого материала с последующей его идентификацией. С целью накопления вирусосодержащего материала используются куриные эмбрионы и культуры тканей (искусственно культивируемые клетки той или иной ткани). Культуры тканей поддерживаются на естественных (среда 27, Эндерса) и синтетических (среда 199, Игла, Мельника-Риордана) питательных средах, приготовленных на основе растворов Хенкса и Эрла. Культивируются они в обычных пробирках, чашках Карреля, пробирках Барского.

Методика заражения куриного эмбриона

Существует несколько способов заражения куриного эмбриона. Чаще всего материал вводят в аллантоисную и амниотическую полости, на хорионаллантоисную оболочку и в желточный мешок. Перед заражением скорлупу яйца над воздушной камерой обрабатывают 70% спиртом, обжигают на пламени, смазывают 2% йодной настойкой, вторично протирают спиртом и обжигают.

При заражении в аллантоисную полость в скорлупе над воздушной камерой (границы которой заранее обводят карандашом при просвечивании яйца в овоскопе) проделывают небольшое отверстие с помощью ножниц или скальпеля. Туберкулиновым шприцем вводят 0,1-0,2 мл вируссодержащего материала на глубину 2-3 мм ниже границы воздушной камеры. Прокол в скорлупе заливают расплавленным парафином. Вскрытие зараженных эмбрионов производят в сроки максимального накопления вируса (через 48-72 ч инкубации при температуре 37 С) после обработки скорлупы спиртом и 2%
раствором йода ее рассекают и сбрасывают, снимают осторожно подскорлупную оболочку и рассматривают хорионаллантоисную оболочку вокруг места заражения на наличие очагов поражений (геморрагий, белесоватых очагов поражений).

Классификация клеточных культур:

• **первичные** получают непосредственно из тканей животного и человека путем разрушения протеолитическими ферментами (трипсин, коллагеназа) межклеточного вещества. Разобщенные клетки, помещенные в питательную среду, способны прикрепляться к поверхности культурального сосуда и размножаться, образуя монослой - слой толщиной в одну клетку. С помощью специальных реактивов клетки можно снять с поверхности одного сосуда и пересадить в другой. Такая манипуляция называется **пассажем.** Первичные культуры выдерживают не более 5-10 пассажей.

• **перевиваемые** (пассажные) клеточные культуры способны выдерживать неограниченное количество пассажей. Они происходят из опухолевых клеток, утративших дифференциацию и не имеющих ограничений роста.

• **полуперевиваемые** (диплоидные) культуры - фибробластоподобные клетки, которые способны к быстрому размножению, выдерживают до 30-60 пассажей и сохраняют исходный набор хромосом.

Вирусы могут репродуцироваться только в клетках живого организма. В связи с этим вирусы культивируются путем заражения куриных эмбрионов или культур тканей, а также животных-сосунков.

Выявление (индикация) вирусов

Обнаружение вируса в курином эмбрионе

1.Гибель

2.Появление запаха при вскрытии

3.Помутнение жидкости в полости

4. Образование язвочек и кровоизлияний на оболочках

Биологический метод исследования заключается в заражении чувствительного к вирусу животного исследуемым материалом, изучении клинической и патологоанатомической картины заболевания. В рамках этого метода используются различные животные: обезьяны, кролики, морские свинки, собаки, мыши, крысы. Способы заражения: субдуральный, внутримозговой, интраназальный и другие.

Способы обнаружения вируса в организме лабораторных животных различаются в зависимости от вида животного и типа вируса.

Обнаружение вирусов в культуре клеток

Выявление по цитопатическому действию (ЦПД). ЦПД представляет собой дегенеративные изменения в клетках, которые появляются в результате репродукции в них вирусов.

Различают полную и частичную дегенерацию клеток монослоя.

При полной дегенерации, вызываемой, например вирусами полиомиелита, Коксаки и ЕСНО, клетки монослоя подвергаются значительным изменениям, большее их количество слущивается со стекла. Оставшиеся единичные клетки сморщены

Частичная дегенерация имеет несколько разновидностей:

1 .По типу гроздьеобразования (аденовирусы);

2 .По типу очаговой деструкции (оспа, грипп);

3.По типу симпластообразования (корь, паротит, парагрипп, герпес, ВИЧ).

Пролиферативный тип изменений характерен для некоторых онкогенных вирусов, трансформирующих клетки в злокачественные.

Внутриклеточные включения образуются при репродукции некоторых вирусов в цитоплазме и ядре клеток (оспы,бешенства, гриппа, герпеса и др.) Их обнаруживают при микроскопии после окраски монослоя по Романовскому - Гимзе, а также при люминесцентной микроскопии.

Цветная проба Солка. В результате жизнедеятельности клеток в питательной среде накапливаются кислые продукты. В результате этого цвет входящего в состав среды индикатора (фенолового красного) становится оранжевым. При заражении культуры клеток такими цитопатогенными вирусами, как энтеровирусы или реовирусы, метаболизм клеток подавляется, pH среды и ее цвет не меняются (среда остается красной).

Реакция гемагглютинации. В основе этой реакции лежит способность вирусов, содержащих рецепторы-гемагглютинины, «склеивать» эритроциты. Если есть гемаглютинины - РГА+(зонтик), если нет - РГА - (пуговка).

Реакция гемадсорбции. Механизм сходен с РГА.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Для микробиологической диагностики вирусных инфекций применяют следующие основных методических подхода

А) бактериологическая диагностика;

б) вирусологическая диагностика;

в) серологическая диагностика;

г) молекулярно-биологическая диагностика.
2. Вирусы размножаются только:
а) в живых системах;
б) на мясопептонном агаре;
в) на дифференциально-диагностических средах;
г) на элективных средах.
3. Первым этапом вирусологической диагностики является получение и подготовка
а) культур клеток;
б) куриных эмбрионов;
в) чувствительных лабораторных животных;
г) дифференциально-диагностических сред.
4. Выявляют вирусы:
А) По цитопатическому действию;
б) По образованию бляшек;
вПо цветной пробе;
г) По биохимическим свойствам.
5. Обнаруживают вирус в куриных эмбрионах
А) по изменению хорионаллантоисной оболочки;
б) РГА (Реакция агглютинации);
в РСК (Реакция связывания комплемента) ;
г) РП (Реакция преципитации).
6.Что такое бактериофаги?
а) бактерии;
б) вирусы;
в) клетки фагоциты;
г) грибы.
7.Какие микробы не имеют клеточного строения?
а) вирусы;
б) микоплазмы;
в) хламидии;
г) грибы.
8.Что содержит сложно организованный вирус?
а) два типа нуклеиновой кислоты;
б) один тип нуклеиновой кислоты (либо ДНК, либо РНК);
в) суперкапсид;.
г) капсид

9. Вирусы открыл:
а) Л.Пастер;
б) Р. Кох;
в) И.Ивановский;
г) И. Мечников.
10. Внеклеточная форма существования вирусов
а) вирион;
б) капсид;
в) капсомер;
г) суперкапсид;
д) элементарные тельца.

Практическое занятие № 9

Тема: Основы генетики.Молекулярно-биологический метод диагностики.

Полимеразная цепная реакция, ее разновидности.

Учебная цель:

1. Изучить способы передачи генетической информации между бактериями: трансдукция, трансформация и конъюгация.
2. Изучить основы биотехнологии и генетической инженерии.

Студент должен знать:

1. Формы изменчивости микроорганизмов.
2. Условия возникновения изменчивости микроорганизмов, их практическое значение.
3. Сущность биотехнологий, цели и задачи.
4. Микроорганизмы и процессы, применяемые в медицинской биотехнологии.
5. Применение генетической инженерии в биотехнологии.
6. Генетические рекомбинации микроорганизмов.

Студент должен уметь:

1.Учесть результаты опыта трансформации.
2. Учесть результаты опыта трансдукции.
3. Учесть результаты опыта коньюгации.

План занятия:

1. Медицинская биотехнология.
2. Генетические рекомбинации: трансдукция, конъюгация, трансформация
3. Роль генетических рекомбинаций в генетической инженерии и медицинской биотехнологии.
4. Использование плазмид в генно-инженерных исследованиях.
5. Применение генетических и молекулярно-биологических методов в диагностике инфекционных заболеваний: ПЦР, метод молекулярных зондов.
6. Биопрепараты, получаемые методом генной инженерии (вакцины, моноклональные антитела, гормоны, диагностикумы).

Самостоятельная работа студентов

1.Учет результатов опыта трансформации.
2. Учет результатов опыта трансдукции.
3. Учет результатов опыта коньюгации.
4.Указать правильные ответы в тестовых заданиях.
5.Зарисовка таблиц.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Постановка опыта трансформации

Реципиент — штамм *Bacillus subtilis Str* (сенная палочка, чувствительная к стрептомицину); донор — ДНК, выделенная из штамма *B. Subtilis Str* (устойчивого к стрептомицину). Селективная среда для отбора рекомби-нантов (трансформантов) питательный агар, содержащий 100 ЕД/мл стрептомицина.

К 1 мл бульонной культуры *B. Subtilis* добавляют 1 мкг/мл раствора ДНКазы в 0,5 мл раствора хлорида магния для разрушения ДНК, не проникшей в бактериальные клетки реципиентного штамма, и выдерживают в течение 5 мин. Для определения количества образовавшихся стрептомицинустойчивых рекомбинантов (трансформантов) 0,1 мл неразведенной смеси высевают на селективную среду в чашку Петри. Для определения количества клеток реципиентной культуры в изотоническом растворе хлорида натрия готовят 10-кратные разведения до 10^{-5}-10^{-6} (для получения сосчитываемого количества колоний), высевают по 0,1 мл на питательный агар без стрептомицина, а для контроля — на агар со стрептомицином. На последней среде реципиентная культура не должна расти, поскольку она чувствительна к стрептомицину. Посев инкубируют, при 37^0 С. На следующий день учитывают результаты опыта и определяют частоту трансформации по отношению количества выросших рекомбинантных клеток к числу клеток реципиентного штамма.

Допустим, что при высеве 0,1 мл культуры реципи-ентного штамма в разведении 10^{-5} выросло 170 колоний, а при высеве 0,1 мл неразведенной смеси — 68 колоний рекомбинантного штамма. Поскольку каждая колония образовалась в результате размножений только одной бактериальной клеткой, то в 0,1 мл засеянной культуры реципиента содержится 170 х 10^5 жизнеспособных клеток, а в 1 мл — 170 х 10^6, или 1,7 х 10^8. В то же время в 0,1 мл смеси находится 68 рекомбинантных клеток, а в 1 мл — 680, или 6,8 х 10^2.

Таким образом, частота трансформации в данном опыте будет равна:

$$\frac{6{,}8 \cdot 10^{-2}}{1{,}7 \cdot 10^{8}} = 4{,}0 \cdot 10^{-6}$$

Постановка опыта специфической трансдукции

Реципиент — штамм E. coli lac$^-$, лишенный 3-галактозидазного оперона, контролирующего ферментацию лактозы. Трансдуцирующий фаг — фаг X dgal, в геноме которого часть генов замещена (3-галактозидазным опе-роном E. coli. Он является дефектным, т. е. не способен вызывать продуктивную инфекцию, заканчивающуюся лизисом кишечной палочки, и обозначается буквой d (фаг dgal) с названием содержащегося в геноме бактериального оперона gal. Селективная среда — среда Эндо, на которой лактозоотрицательные бактерии реципиентного штамма образуют бесцветные колонии, а лактозоположительные колонии рекомбинантного штамма приобретают красный цвет с металлическим оттенком. К 1 мл 3-часовой бульонной культуры реципиентного штамма добавляют 1 мл трансдуцирующего фага dgal в концентрации 10^6- 10^7 частиц в 1 мл. Смесь инкубируют в течение 60 мин при 37^0C, после чего готовят ряд 10-кратных разведений (в зависимости от предполагаемой концентрации бактерий) для получения сосчитываемого количества колоний. Из пробирки с разведением 10^{-6} делают высев по 0,1 мл культуры на 3 чашки Петри со средой Эндо и равномерно распределяют жидкость шпателем по поверхности среды.

Посевы инкубируют в течение 1 суток, после чего отмечают результаты опыта и вычисляют частоту трансдукции по отношению количества клеток рекомбинантов (транс-дуктантов), обнаруженных на всех чашках, к числу клеток реципиентного штамма.

Например, после посева 0,1 мл смешанной культуры в разведении 10^{-6} на 3 чашках со средой Эндо выросло соответственно 138, 170 и 160 бесцветных колоний реципиентного штамма, на первой и последней чашках — 5 и 1 колонии трансдуктантов красного цвета. Следовательно, частота трансдукции в этом случае будет равна:

$$\frac{(5+1) \cdot 10 \cdot 10^{-6}}{(138+170+160) \cdot 10 \cdot 10^{-6}} = \frac{6}{486} = 1{,}3 \cdot 10^{-2}$$

Постановка опыта конъюгации с целью передачи фрагмента хромосомы, который содержит ген leu, контролирующий синтез лейцина.

Донор — штамм *E. coli* K12 Hfr *leu* Str^S; реципиент — штамм *E. Coli* K12 F$^-$ *leu*+ Str^R . Hfr — обозначение состояния, для которого характерна высокая частота рекомбинации. Селективная среда для выделения рекомбинантов -минимальная глюкозосолевая среда: KH_2PO_4 — 6,5 г, $MgSO_4$ — 0,1 г, $(NH_4)2SO_4$ — 1 г, $Ca(NO_3)2$ — 0,001 г, $FeSO_4$ — 0,0005 г, глюкозы — 2 г, стрептомицина — 200 ЕД/мл, дистиллированной воды — 1 л.

К 2 мл 3-часовой культуры реципиента добавляют 1 мл бульонной культуры донора. Посевы инкубируют при 37^0 С в течение 30 мин. Затем смесь разводят до 10^{-2}-10^3 и высевают по 0,1 мл на селективную агаровую среду в чашки Петри, на которой вырастут только колонии рекомбинантов. В качестве контроля на ту же среду высевают донорский и реципиентный штаммы, которые не будут расти на ней, т. к. первый штамм чувствителен к

стрептомицину, а второй ауксотрофен по лейцину. Кроме того, культуру донорского штамма высевают на селективную среду без стрептомицина, а культуру реципиентного штамма — на полную среду (питательный агар) с антибиотиками для определения числа жизнеспособных клеток. Посевы инкубируют при 37^0 С до следующего дня. После подсчета числа выросших колоний определяют частоту рекомбинаций по отношению количества рекомбинантных клеток к реципиентным.

Например, после посева 0,1 мл смеси донорских и реципиентных культур в разведении 10^{-2} выросло 150 колоний рекомбинантов, а после посева 0,1 мл культуры реципиента из разведения 10^{-6} 75 колоний. Таким образом, частота рекомбинации будет равна:

$$\frac{150 \cdot 10 \cdot 100}{75 \cdot 10 \cdot 10^6} = \frac{1{,}5 \cdot 10^5}{7{,}5 \cdot 10^8} = 2{,}0 \cdot 10^{-4}$$

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — один из современных молекулярно-генетических методов, основанный на принципе многократного копирования (амплификации) определенного участка ДНК или РНК. В результате этого процесса количество определяемой ДНК в пробе возрастает в десятки миллионов раз, что делает возможной последующую детекцию амплифицированной ДНК. Таким образом, ПЦР позволяет выявить ничтожно малые фрагменты ДНК, характерные для определенного вида микробов, и точно идентифицировать этот вид.

ПЦР в клетке была открыта более 30 лет назад Нобелевскими лауреатами А.Кронбергом и Д.Ледебергом. Принцип метода ПЦР in vitro был разработан К.Мюлисом в 1983 году, также ставшим Нобелевским лауреатом. Почти немедленно появились сообщения о его практическом применении. Однако в этот период из-за отсутствия необходимого оборудования ПЦР проводили путем ручного переноса пробирок в термостаты с нужной температурой. Необходимый для синтеза ДНК фермент ДНК-полимераза разрушался после каждого этапа денатурации (при 95°С), поэтому требовалось постоянное добавление его новых порций.

В 1988 г была получена термостабильная ДНК-полимераза из бактерии Thermophilus aquaticus, живущей в горячих источниках. Были разработаны специальные приборы для амплификации (термоциклеры). Созданы современные лазерные технологии сиквенирования (расшифровки нуклеотидных последовательностей ДНК). Это привело к тому, что ПЦР стал доступным для широкого применения в лабораторной практике.

В настоящее время наиболее быстро развиваются пять основных направлений генной диагностики:

- инфекционных заболеваний (туберкулез, гонорея, вирусные инфекции — гепатиты В и С, ВИЧ, ЦМВ и др.),
- онкологических заболеваний,
- генетических заболеваний,
- идентификация личности (трансплантация органов и тканей, судебная медицина, определение отцовства),
- диагностика патогенов в пище.

Исследуемый материал: кровь, сыворотка, лаважные массы, мокрота, слюна, желудочный сок, биопсийный материал, мазки, смывы.

Постановка ПЦР включает следующие этапы:

1. Выделение ДНК (РНК) из исследуемого материала (пробоподготовка).

Клетки лизируют детергентами или высокой температурой. Затем отделяют ДНК от клеточных обломков и разрушают клеточные нуклеазы. Все это обеспечивают приборы: миницентрифуги, развивающие скорость 12000 -14000 оборотов в минуту, вортексы для перемешивания, минитермостаты для пробирок, обеспечивающие быстрое изменение температуры от +30°С до +100°С.

2. Непосредственная амплификация выделенных участков (копий) нуклеиновых кислот.

ПЦР обеспечивает быстрое и многократное умножение, амплификацию (amplification — усиление, увеличение) количества фрагментов генома. Для этого в пробирку с выделенной ДНК добавляют необходимые реактивы и помещают в амплификатор (термоциклер). Этот прибор позволяет циклически изменять и поддерживать перепады температур в пробирке на несколько десятков градусов за несколько секунд. Если в пробирке есть искомая ДНК, то в ней происходит ряд процессов:

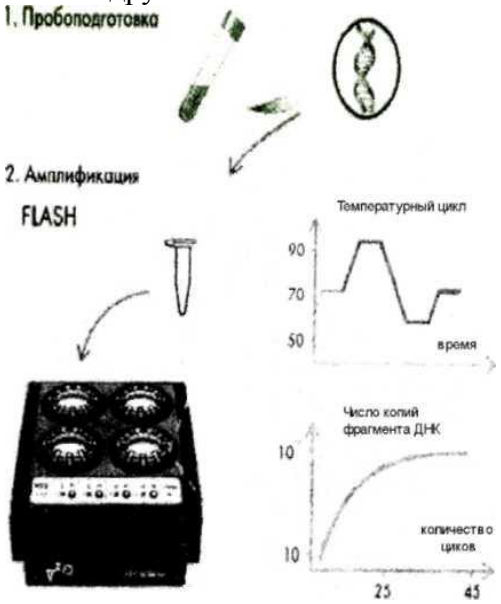
- В результате нагревания до 94 -95°С двойная цепь ДНК разделяется на две отдельные цепи.

- К одноцепочечной ДНК-мишени присоединяется праймер.

Праймер — это последовательность из 15 — 30 нук-леотидов, комплементарная маркерному фрагменту ДНК. При создании оптимальной температуры (45-70°С) происходит связывание (отжиг) праймера с соответствующим участком ДНК: один праймер — на одной нити, другой — на второй нити ДНК. Отжиг протекает в соответствии с правилом комплементарности Чаргаффа, означающим, что в двухцепочечной молекуле ДНК напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина — цитозин.

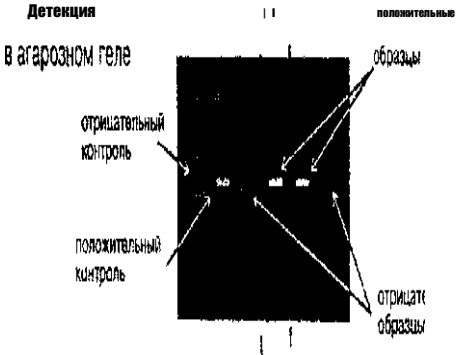
- Синтез (элонгация) — достраивание второй цепи ДНК.

ДНК-полимераза присоединяет нуклеотиды к праймерам, достраивая двухцепочечные фрагменты ДНК (~ при 72°С). Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат матрицей для синтеза новых цепей в следующем цикле амплификации — это и есть цепная реакция в ПЦР. В результате количество копий фрагмента увеличивается в геометрической прогрессии и через 25 циклов амплификации синтезируется 10^6 копий фрагмента. Через 30 — 40 циклов синтезируется такое количество ДНК, которое можно визуально учитывать после электрофореза в агарозном геле или другими способами.



3. Определение (детекция) продуктов ПЦР, полученных на втором этапе.

Выявление наработанного продукта чаще всего проводят при помощи электрофореза в 2-



3% агарозном геле, содержащем бромид этидия (специфический флюоресцентный краситель ДНК). Поглощая ультрафиолетовый свет краситель, связанный с ДНК, флюоресцирует. В результате видна оранжевая полоска на уровне контрольной ДНК. Кроме того, используют ферментно-гибридизационный метод или ПЦР в режиме «реального времени» с помощью флюоресцентных красителей.

Тестовый контроль:

1. Что такое трансформация?
а) восстановление поврежденной ДНК;
б) передача генетической информации при контакте бактериальных клеток разной «половой» направленности;
в) передача генетической информации с помощью фрагмента ДНК;
г) передача генетической информации от клетки донора клетке реципиента с помощью бактериофага.
2.Для конъюгации характерно:
а) передача генетического материала при помощи бактериофага;
б) необходим контакт клеток донора и реципиента;
в) передача генетического материала с помощью РНК;
г) передача генетического материала с помощью полового фактора.
3.Для трансдукции характерно:
а) передача генетического материала при помощи бактериофага;
б) необходим контакт клеток донора и реципиента;
в) передача генетического материала с помощью РНК;
г) передача генетического материала с помощью полового фактора.
4. У каких микроорганизмов материальной основой наследственности является РНК?
а) у бактерий;
б) у спирохет;
в) у РНК-содержащих вирусов;
г) у ДНК-содержащих вирусов;
д) у микоплазм.
5. Что относят к внехромосомным генетическим структурам?
а) рибосомы;
б) полисомы;
в) плазмиды;
г) мезосомы;
д) ранспозоны.

Практическое занятие №10

Тема: Антибактериальная химиотерапия

Учебная цель:

1. Изучить механизм действия антибиотиков на микробную клетку.
2. Изучить методику определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Студент должен знать:

1. Спектр действия антибиотиков на микробную клетку.
2. Определение чувствительности (методы индикаторных дисков и кассетный).

Студент должен уметь:

1. Описать результаты чувствительности чистой культуры к антибиотикам.
2. Определить чувствительность бактерий к антибиотикам методом индикаторных дисков.

План занятия:

1. Антибиотики, определение, классификация по химической структуре, спектру, типам и механизму действия.

2. Химиотерапевтические препараты, механизм их действия на микробную клетку.
3. Механизмы лекарственной устойчивости бактерий.
4. Побочное действие антибиотиков и синтетических противомикробных лекарственных средств.
5. Методы и единицы измерения антимикробной активности.
6. Противовирусные химиотерапевтические препараты.
7. Демонстрация антибиотиков с различным механизмов и спектро действия.
8. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов

1. Учесть результаты дисковой антибиотикограммы.
2. Учесть результаты кассетного микрометода.
3. Оформить протокол исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Все антибиотики обладают избирательностью действия. Их относительная безвредность для человека определяется, прежде всего, тем, что они специфически подавляют такие метаболические процессы в микробной клетке или вируса, которые отсутствуют в эукариотной клетке или недоступны для них. В этом отношении уникальным является механизм действия бета-лактамных антибиотиков. Мишенями для них являются транспептидазы, которые завершают синтез пептидогликана клеточной стенки. Поскольку клеточная стенка есть только у прокариот, в эукариотной клетке нет мишени для бета-лактамных антибиотиков. Транспептидазы представляют собой набор белков-ферментов, локализованных в цитоплазматической мембране бактериальной клетки. Отдельные бета-лактамы различаются по степени сродства к тому или иному ферменту, которые получили название пеницил-линсвязывающих белков. Поэтому биологический эффект бета-лактамных антибиотиков различен: бактериостати-ческий, бактерицидный, литический.

Кроме бета-лактамных антибиотиков, синтез клеточной стенки поражают такие антибиотики, как бацитрацин, фосфомицин, циклосерин, ванкомицин, ристомицин, однако иным путем, чем пенициллин. Все они, кроме циклосерина, вызывают бактерицидный эффект.

Механизм действия таких антибиотиков, как хлорамфеникол, тетрациклины, стрептомицин, аминогликозиды, эритромицин, олеандромицин, спирамицин и другие макролиды, линкозамиды, фузидиевая кислота, связан с угнетением синтеза белка на уровне рибосом 708. Хотя бактериальные рибосомы 708 имеют такую же в принципе структуру, как рибосомы 808 эукариотных клеток, их белки и белковые факторы, участвующие в работе белоксинтезирующей системы, отличаются от таковых рибосом 808. Этим объясняется избирательность действия указанных антибиотиков на белковый синтез бактерий.

Разные антибиотики по-разному блокируют синтез белка. Тетрациклины блокируют связывание ат-РНК на А-участке рибосомы 708. Хлорамфеникол подавляет пептидилтрансферазную реакцию. Стрептомицины препятствуют превращению инициаторного комплекса в функционально активную рибосому. Эритромицин блокирует реакцию транслокации. Пуромицин, присоединяясь к растущему концу синтезируемой полипептидной цепи, вызывает преждевременное отделение ее от рибосомы. Механизм действия фторхинолонов связан с их избирательным подавлением бактериальных ферментов ДНК-гираз, участвующих в репликации ДНК. Фторхинолоны связываются со специфическими участками ДНК, которые создаются воздействием ДНК-гиразы, и подавляют ее активность.

Рифампицины угнетают активность ДНК-зависимых РНК-полимераз, вследствие чего у бактерий подавляются процессы транскрипции.

Активность противоопухолевых антибиотиков связана с тем, что они либо являются ингибитором синтеза ДНК (брунеомицин), либо подавляют активность ДНК-зависимой

РНК-полимеразы, т. е. блокирует транскрипцию (антрациклины, актиномицины, оливомицин).

Учёт результатов определения чувствительности выделенных из исследуемого материала микроорганизмов к антибиотикам проводится следующим способом: на рабочем столе находится чашка Петри, на которой был высеян выделенный из исследуемого материала микроб и были нанесены на равном расстоянии друг от друга диски с антибиотиками (методика этой работы изложена в практическом руководстве).

Студенту необходимо сделать вывод о степени чувствительности выделенной культуры к антибиотикам. Смысл данного исследования сводится к следующему: поверхность питательной среды на чашке смачивают взвесью выделенной чистой культуры в физ. растворе и таким образом достигается равномерное распределение культуры по всей чашке. «Поверх» посева накладываются диски с антибиотиками и чашки инкубируют в термостате. С дисков, пропитанных каждый отдельным антибиотиком, происходит диффузия антибиотиков в толщу агара. Чем чувствительнее культура к антибиотику, тем меньше его эффективность концентрации и тем больше диаметр зоны задержки роста культуры вокруг определенного диска. При этом результат учитывается по следующей схеме (таблица).

Культура высокочувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий 30 и более мм.
Культура средне чувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий не менее 20 мм.
Культура слабо чувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий не более 10 мм.

Тестовый контроль

1. Синтез клеточной стенки подавляют антибиотики:
   а) полимиксин
   б) аминогликозиды
   в) цефалоспорины
   г) тетрациклины
2. Нарушение функции цитоплазматической мембраны отмечается под действием:
а) цефалоспорина
б) макрорлидов
в) левомецитина
г) нистатина
3. Антибиотики, ингибирующие синтез белка на рибосомах бактериальных клеток:
а) пенициллин
б) полимиксин
в) аминогликозиды
г) амфотерицин В
4. Антибиотики, действующие на синтез нуклеиновых кислот
а) эритромицин
б) олеандомицин
в) рифампицин
г) линкомицин
5. Чувствительность к антибиотикам определяют:
а) методом мембранных фильтров
б) методом бумажных дисков
в) двухфазным бродильным методом
г) седиментационным методом
д) аспирационным методом.

Практическое занятие №11

Тема: Симбиоз. Резиденты и патогенны. Грибы-возбудители микозов.

Учебная цель:

1. Изучить этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
2. Изучить микрофлору тела человека
3. Изучить грибы - возбудители микозови и микологический метод исследования

Студент должен знать:

1. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
2. Микрофлору тела человека.
3. Условия формирования ассоциации резидентов.
4. Отличия патогенов от резидентов.

Студент должен уметь:

1. Проводить посев материала с пальцев рук на чашку с МПА (метод отпечатков).
2. Посев отделяемого из носа и зева на МПА.

План занятия:

1. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
2. Условия формирования ассоциации резидентов.
3. Отличия патогенов от резидентов.
4. Какими методами можно изучать микрофлору человека?
5. Состав резидентной микрофлоры кожных покровов человека.

Самостоятельная работа студентов:

1. Приготовление мазков из дрожжевых грибов, окрасить их простым методом (метиленовой синью) и микроскопировать.
2. Приготовление и микроскопирование нативных препаратов из культур плесневых грибов.
3. Просмотр и зарисовка демонстрационных препаратов:
   а) актиномицетов, окрашенных по Граму;
   б нативных препаратов из культур плесневых грибов (мукор, аспергилл, пеницилл);
   в дрожжевых грибов, окрашенных метиленовой синей;
4. Посев материала с пальцев рук на чашку с МПА (метод отпечатков).
5. Посев отделяемого из носа и зева на МПА.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Микроорганизмы находятся в различных взаимоотношениях друг с другом. Совместное существование двух различных организмов называется *симбиозом.* Различают несколько вариантов полезных взаимоотношений: метабиоз, мутуализм, комменсализм, сателлитизм.

Антагонистические взаимоотношения выражаются в виде неблагоприятного воздействия одного вида микроорганизма на другой, приводящего к повреждению и даже гибели последнего. Формы антагонизма: конкуренция, хищничество, паразитизм.

Микрофлора организма человека

Организм человека заселен примерно 500 видами микробов, составляющими его нормальную микрофлору, в виде сообщества микроорганизмов *(микробиоценоз).* Они находятся в состоянии равновесия *(эубиоза)* друг с другом и организмом человека. Различают нормальную микрофлору различных биотопов: кожи, слизистых оболочек полости рта, верхних дыхательных путей, ЖКТ и мочеполовой системы. В организме выделяют постоянную и транзиторную микрофлору. *Постоянная* микрофлора представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в организме. *Транзиторная* микрофлора не способна к длительному существованию в организме. Постоянную микрофлору можно

разделить на облигатную и факультативную. Облигатная микрофлора (бифидо-бактерии, лактобактерии, пептострептококки, кишечная палочка и др.) является основой микробиоценоза, а факультативная микрофлора (стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, клостридии, некоторые грибы и др.) включает меньшую часть микробиоценоза. Микроорганизмы, составляющие нормальную микрофлору, заключены в высокогидратированный экзополисахаридномуциновый матрикс, образуя биологическую пленку, устойчивую к различным воздействиям.

Протокол исследования

№	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

Грибы (Fungi, Mycetes) — разнородная группа эукариотических микроорганизмов. Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цито-плазматическую мембрану (которая содержит фосфолипиды и стеролы) и мощную клеточную стенку, состоящую из глюкана, целлюлозы, хитина, белка, липидов и др. Грибы состоят из длинных тонких нитей (гиф), сплетающихся в грибницу, или мицелий. Гифы низших грибов — фикомицетов — не имеют перегородок. У высших грибов — эумицетов — гифы разделены перегородками; их мицелий многоклеточный. Грибы размножаются спорами, половым и бесполым способами, а также вегетативным путем (почкование или фрагментация гиф). Грибы, размножающиеся половым и бесполым путем, относятся к совершенным. Несовершенными называют грибы, у которых отсутствует или еще не описан половой путь размножения. Бесполое размножение осуществляется у грибов с помощью эндогенных спор, созревающих внутри круглой структуры — спорангия, и экзогенных спор — конидий, формирующихся на кончиках плодоносящих гиф.

Грибы можно разделить на 7 классов: хитридиомицеты, гифохитридиомицеты, оомицеты, зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты, дейтеромицеты. Подавляющее большинство грибов, вызывающие заболевания у человека (микозы), относятся к несовершенным грибам. Для диагностики микозов могут быть использованы микроскопические (культуральные), аллергические, серологические, биологические и гистологические методы исследования. Материалом для исследования могут быть гной, мокрота, пораженные волосы, ногти, чешуйки кожи, пунктаты костного мозга, лимфатических узлов, внутренних органов, кровь, желчь, испражнения, биоптаты тканей и т. п. Для окраски мазков чаще всего используют методы Грама, Циля-Нильсена, Романовского-Гимзы

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Представителями резидентной микрофлоры кожи человека являются
а) стафилококки ;
б) стрептококки;
в) лактобактерии;
г) дрожжеподобные грибы.
2. У здорового человека стерильными являются следующие органы
а) почки;
б) матка;
в) бронхи, легкие;
г) желудок.
3.При ослаблении организма на коже возрастает количество
а) Гр – бактерий;
б) Гр + бактерий
4. Нормальная микрофлора тела человека выполняет следующие функции
а) защитную;
б) транспортную;

в) иммунную ;
г) дыхательную.
5. К полезным вариантам взаимоотношений между микроорганизмами относятся
а) метабиоз;
б) конкуренция;
в) комменсализм;
г) паразитизм.

Практическое занятие №12 СДАЧА МОДУЛЯ

Практическое занятие №13
Тема: Физиологические механизмы иммунитета. Реакции иммунитета (агглютинации и преципитации).

Учебная цель:
1. Изучит физиологические механизмы иммунитета.
2. Изучить серологические методы лабораторной диагностики.

Студент должен знать:

1**.** Постановку реакции агглютинации (развернутая).
2.Постановку реакции преципитации, практическое применение.
3.Получение диагностических сывороток, классификацию.

Студент должен уметь:
1. Поставить ориентировочную реакцию агглютинации на предметном стекле.
2. Поставить развернутую реакцию агглютинации.
3. Поставить реакцию кольцепреципитации.

План занятия

1. Антигены, их природа. Гаптены. Антигены бактерий.
2. Антитела, классификация. Структура иммуноглобулинов, основные классы.
3. Гуморальный и клеточный иммунный ответ
4. Серологические реакции, их сущность и механизм, практическое применение. Серодиагностика. Сероидентификация.
5. Реакция агглютинации, методы постановки, фазы реакций, практическое применение.
6. Реакция преципитации, способы постановки, практическое применение.
7. Диагностикумы, классификация, применение.
8. Диагностические сыворотки, получение и виды диагностических сывороток – агглютинирующие (адсорбированные и неадсорбированные, моно- и поливалентные), преципитирующие.
9. Демонстрация развернутой реакции агглютинации, реакции гемолиза.
10. Постановка реакции кольцепреципитации.
11. Демонстрация диагностикумов и диагностических сывороток.

Самостоятельная работа студентов:

1. Постановка и учет ориентировочной реакции агглютинации на предметном стекле с целью идентификации выделенной чистой культуры грамотрицательных палочек.
2. Постановка и учет развернутой реакции агглютинации с целью серодиагностики брюшного тифа.
3. Постановка и учет реакции термокольцепреципитации с целью сероиндикации сибирской язвы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Под **иммунитетом** (от лат. immunitas — освобождение, избавление от чего-либо) в биологии и медицине понимают комплекс реакций организма, направленных на сохранение его структурной и функциональной целостности при воздействии на организм генетически чужеродных веществ, как поступающих извне, так и образующихся внутри организма.
Различают несколько основных видов иммунитета:

-*Наследственный иммунитет* (врождённый, видовой) обусловлен выработкой в процессе филогенеза генетически закрепленной невосприимчивости вида к данному антигену или микроорганизму.

-*Приобретенный иммунитет* специфичен и не передаётся по наследству. Он формируется естественно и создается искусственно. Естественный приобретенный иммунитет появляется после перенесённого инфекционного заболевания (оспа, корь и др.). Искусственный приобретенный иммунитет возникает при вакцинации.

Иммунитет бывает *активный* и *пассивный. Активный иммунитет* вырабатывается организмом в результате воздействия антигена на иммунную систему (например, при вакцинации). *Пассивный иммунитет* обусловлен антителами, передаваемыми от иммунной матери ребенку при рождении или путем введения иммунных сывороток, а также при пересадке иммунных клеток.

Активный иммунитет может быть *гуморальным* (обусловлен антителами), *клеточным* (обусловлен им-мунокомпетентными клетками) и *клеточно-гумораль-ным* (обусловлен и антителами, и иммунокомпетентными клетками). Например, антитоксический иммунитет к ботулизму и столбняку является гуморальным, так как он обусловлен антителами, циркулирующими в крови; иммунитет к лепре или туберкулезу — клеточный, а к оспе — клеточно-гуморальный.

Различают также иммунитет *стерильный,* сохраняющийся в отсутствие микроорганизма, и *нестерильный,* который существует только при наличии возбудителя в организме. Классическим примером нестерильного иммунитета является иммунитет при туберкулезе.

Отдельно выделяют так называемый *местный иммунитет,* который защищает отдельные участки организма, например, слизистые оболочки от возбудителей инфекционных болезней. Он формируется при участии секреторного иммуноглобулина А и характеризуется более активным фагоцитозом.

Антигены — это любые генетически чужеродные для данного организма вещества (обычно биополимеры), которые, попав во внутреннюю среду организма или образуясь в организме, вызывают ответную специфическую иммунологическую реакцию: синтез антител, появление сенсибилизированных лимфоцитов или возникновение толерантности к этому веществу, гиперчувствительности замедленного или немедленного типов, иммунологической памяти.

Антигены обладают специфичностью, которая связана с определённой химической группой в составе молекулы, называемой детерминантой, или эпитопом. Детерминанты антигена — это те его части, которые распознаются антителами и иммунокомпетентными клетками.

Различают *полноценные* и *неполноценные (гаптены) антигены.* Антигены, вызывающие полноценный иммунный ответ, имеющие 2 и более детерминанты, называются *полноценными.* Это органические вещества микробного, растительного и животного происхождения. *Гаптенами* могут быть химические вещества с малой молекулярной массой или более сложные химические вещества, не обладающие свойствами полноценного антигена: некоторые бактериальные полисахариды, полипептид туберкулёзной палочки (РРД), ДНК, РНК, липиды, пептиды. *Гаптены* из-за небольшой молекулярной массы не фиксируются иммунокомпетентыми клетками макроорганизма и не могут вызвать ответную иммунологическую реакцию. *Полугаптены* — неорганические радикалы (йод, бром, нитрогруппа, азот и др.), присоединившиеся к белковой молекуле, могут менять иммунологическую специфичность белка.

Антителообразование. В ответ на введение антигена иммунная система вырабатывает антитела — белки, способные специфически соединяться с антигеном, вызвавшим их образование и, таким образом, участвовать в иммунологических реакциях. Относятся антитела к у-глобулинам, т. е. наименее подвижной в электрическом поле фракции белков сыворотки крови. В организме у-глобулины вырабатываются особыми клетками — плазмоцитами. В соответствии с Международной классификации у-глобулины, несущие функции антител, получили название иммуноглобулинов и обозначаются символом lg. Следовательно, антитела — это иммуноглобулины, вырабатываемые в ответ на введение антигена и способные специфически взаимодействовать с этим же антигеном.

Функции антител. Первичная функция антител состоит во взаимодействии их активных центров с комплементарными им детерминантами антигенов. Вторичная функция антител состоит из их способности:

- связывать антиген с целью его нейтрализации и элиминации из организма;
- участвовать в распознавании «чужого» антигена;
- обеспечивать кооперацию иммунокомпетентных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов);
- участвовать в различных формах иммунного ответа (фагоцитоз, киллерная функция, иммунологическая толерантность, иммунологическая память, гиперчувствительность немедленного типа, гиперчувствительность замедленного типа).

Белки иммуноглобулинов по химическому составу относятся к гликопротеидам, так как состоят из протеина и сахаров; построены из 18 аминокислот. Различают 5 классов иммуноглобулинов: IqM, IgG, IgA, IgE,IgD. Иммуноглобулины M, G, A имеют подклассы. Например, IgG имеет четыре подкласса (IgGl, IgG2, IgG3, IgG4).

Иммунологической памятью называют способность организма при повторной встрече с одним и тем же антигеном реагировать более активным и более быстрым формированием иммунитета, т.е. реагировать по типу вторичного иммунного ответа.

Иммунологическая толерантность явление противоположное иммунологической памяти. В этом случае в ответ на повторное введение антигена организм вместо энергичной выработки иммунитета проявляет ареактив-ность, не отвечает иммунной реакцией, т. е. толерантен антигену.

I. Реакция агглютинации на предметном стекле

Нанести на предметное стекло на достаточном расстоянии друг от друга три капли: физиологического раствора, брюшнотифозной агглютинирующей сыворотки (№ 1) и дизентерийной агглютинирующей сыворотки (№ 2). Исследуемую культуру внести в каплю физиологического раствора и тщательно растереть в ней до появления выраженного помутнения. Бактериальной петлей подготовленную взвесь перенести в сыворотку № 1 и тщательно перемешать. Далее бактериологическую петлю необходимо простерилизовать прокаливанием. Затем взять бактериальной петлей материал из взвеси культуры в капле физиологического раствора и внести ее в каплю сыворотки № 2. Стекло слегка и осторожно покачивать для тщательного перемешивания. Учет результатов реакции производят спустя 1-2 минуты: в капле физиологического раствора сохраняется равномерное помутнение, тогда как в капле одной из сывороток отмечается агглютинация. Признаками агглютинации являются: выпадение зерен агглютината и просветление жидкости. В случае обнаружения в контрольной капле с физиологическим раствором спонтанной агглютинации результаты реакции не подлежат дальнейшему учету, а сама реакция требует повторной постановки.

II. Развернутая реакция агглютинации

Развернутая реакция агглютинации поставлена с целью определения титра антител в сыворотке крови больного.

Исследуемая сыворотка разводится физиологическим раствором в 50 раз, и полученное таким образом разведение (1:50) считается исходным. Далее исходное разведение сыворотки

последовательно двукратно разводится физиологическим раствором. Для этого (см. схему постановки):

а) во все агглютинационные пробирки, кроме № 6, вносятся по 1,0 мл физиологического раствора;

б) в пробирку № 1 и № 6 вносится по 1,0 мл сыворотки в исходном разведении 1:50, и, таким образом, сыворотка в пробирке № 1 разводится еще вдвое, то есть в 100 раз;

в) 1,0 мл сыворотки из пробирки № 1 переносится в пробирку № 2 к имеющимся в ней 1,0 мл физиологического раствора, вследствие чего сыворотка разводится еще вдвое, то есть в 200 раз, и так далее, вплоть до пробирки № 5, где разведение достигает 1:1600;

г) очевидно, что в пробирках № 1 -№ 4 содержится по 1,0 мл сыворотки, тогда как в пробирке № 5 содержится 2,0 мл ее — избыточные 1,0 мл удаляются, и, таким образом, объемы в опытных пробирках № 1 — № 5 уравниваются. В пробирке № 6 осуществляется контроль сыворотки. Далее в каждую пробирку, за исключением пробирки № 6, вносят по 2 капли ДИАГНОСТИКУМА — обработанной формалином взвеси в физиологическом растворе клеток культуры Salmonella typhi, в каждом миллилитре которой содержится 2 миллиарда бактериальных тел. Штатив с пробирками встряхивают и помещают в термостат при t 37°С на 2 часа. После выдержки в термостате штатив с реакцией выдерживают при комнатной температуре или «на холоду» (+3° +5°С) в течение 18 часов.

Компоненты реакции	Опыт					сыворотки	диагностикума
	1	2	3	4	5	6	7
1. Физ. Раствор	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
2. Исследуемая сыворотка (1:50); мл	1,0 1:100	1,0 1:200	1,0 1:400	1,0 1:800	1,0 1:1600	1,0 1:100	1,0
3. Диагностикум, капли	2	2	2	2	2	-	2

Учет результатов производят через сутки в следующей последовательности: в первую очередь оценивают состояние контрольных пробирок (№6 и №7), во вторую очередь —опытных. В пробирке №6 (контроль сыворотки) должна быть абсолютно прозрачная, лишенная какого-либо осадка жидкость. В пробирке №7 (контроль диагностикума) —равномерное помутнение. Результаты опытных пробирок следует оценивать, начиная с пробирки с наибольшим разведением сыворотки (№5). Результат реакции учитывается по выпадению на дно пробирки хлопьев агглютината и одновременному просветлению содержимого пробирки; при легком постукивании по стенке пробирки или осторожном встряхивании агглютинат легко отделяется от дна, всплывает и, не изменяя своей структуры, возвращается в исходное положение.

III. Реакция кольцепреципитации

Реакция преципитации используется чаще всего для определения наличия в материале растворимых антигенов. В контрольную преципитационную пробирку, приблизительно до половины ее объема вносится нормальная сыворотка. В опытную пробирку вносится то же количество преципитирующей сыворотки. Далее в каждую пробирку вносится небольшое количество исследуемого материала — например, экстракта из шкуры животного (овцы), погибшей предположительно от сибирской язвы. Исследуемый материал следует вносить путем осторожного наслаивания на внутреннюю стенку преципитационной пробирки, удерживаемой в руке на высоте 30-35 см от поверхности рабочего стола под углом 45° к горизонтали.

В опытной пробирке на границе сыворотки и исследуемого материала наблюдается образование преципитата: белесоватого «диска», необратимо разрушающегося при встряхивании пробирки. В контрольной пробирке образования преципитата не наблюдается.

IV. Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РИТА)

РПГА основана на использовании эритроцитов с адсорбированными на их поверхности антигенами (эритроцитарный диагностикум), взаимодействие которых с соответствующими антителами сыворотки крови больных вызывает выпадение эритроцитов в осадок на дно пробирки (лунки) в виде «раскрытого зонтика».

Исследуемую сыворотку больного разводят в 10 раз и прогревают при 65°С 20 минут на водяной бане для удаления неспецифических гемагглютининов, затем готовят ряд ее разведений от 1:100 до 1:3200 и разливают в лунки по 0,5 мл. В каждую лунку добавляют по 0,5 мл диагностикума. В каждый ряд лунок добавляется соответствующий эритроцитарный диагностикум: к шигеллам Зонне, Флекснера, Ньюкастла и поливалентный сальмонеллезный.

Одновременно ставят контроли диагностикумов и контроль исследуемой сыворотки. Результат реакции учитывают после инкубации в термостате в течение 2 часов при 37°С или при комнатной температуре в течение 1824 часов. Реакция считается положительной при условии расположения эритроцитов в виде «зонтика» по всей поверхности дна лунки и оценивается как «+».

Схема постановки

Разведение исследуемой сыворотки	ДИАГНОСТИКУМЫ				КОНТРОЛЬ				
	Зонне	Флекс-нер	Нью-кастл	Саль-мон. поливал.	Кд 1	Кд 2	Кд 3	Кд 4	Кс
1:100									
1:200									
1:400									
1:800									
1:1600									
1:3200									
Инкубация при t 37^0 С; 24 часа.									
Учет результатов									

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какие компоненты участвуют в реакции непрямой гемагглютинации?
а) антитела, антигены, комплемент;
б) антитела, антигены, физиологический раствор;
в) антигены, физиологический раствор;
г) антигены, эритроциты, антитела, физиологический раствор.
2.Какие компоненты участвуют в реакции преципитации?
а) корпускулярные антигены, антитела, физиологический раствор;
б) растворимые антигены, антитела, физиологический раствор;
в) антигены, антитела, комплемент;
г) антигены, антитела, эритроциты, физиологический раствор.
3.Какие компоненты участвуют в реакции торможения гемагглютинации?
а) антигены, антитела, физиологический раствор;
б) антигены, антитела, комплемент;
в) корпускулярные антигены, антитела, физиологический раствор;
г) вирусы, эритроциты, антитела;
д) бактерии, эритроциты, антитела.

4.Дополнительным компонентом (кроме антигенов и антител), участвующим в реакции агглютинации является:
а) комплемент сыворотки морской свинки;
б) изотонический раствор NaCl;
в) эритроциты;
г) гемолитическая система.
5.Визуальный результат реакции агглютинации:
а) гемолиз эритроцитов барана;
б) задержка гемолиза эритроцитов барана;
в) просветление мутной среды реакции и образование крупнодисперсного (зернистого) осадка;
г) помутнение прозрачной среды реакции и образование мелкодисперсной взвеси (флоккулята) или кольца преципитации.

Практическое занятие №14

Тема: Серологические реакции. Реакции иммунитета с участием комплемента.

Реакции иммунитета с меченными компонентами.

Учебная цель:
1.Изучить комплементзависимые серологические реакции,
2. Изучить реакции иммунитета с меченными компонентами.

Студент должен знать:
1**.** Постановку реакции иммунного лизиса.
2.Постановку реакции связывания комплемента (РСК).
3. Постановку реакции иммунитета с меченными компонентами.

Студент должен уметь:
1. Поставить реакцию иммунного лизиса.
2. Поставить реакцию связывания комплемента (РСК).
3. Поставить реакцию иммунитета с меченными компонентами.

План занятия:

1. Реакции иммунного лизиса, компоненты.
2. Реакция гемолиза.
3. Реакция связывания комплемента (РСК). Постановка и учет реакции связывания комплемента.
4. Реакция иммунофлюоресценции, прямая и непрямая.
5. Иммуноферментный анализ, компоненты, применение.
6. Радиоиммунный анализ, компоненты, применение.

Самостоятельная работа студентов:

1.Постановка и учет реакции связывания комплемента с целью серодиагностики сифилиса

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ:

Принципиальная схема постановки реакции связывания комплемента

Компоненты реакции	№ пробирки		
	1(опыт)	2 (контр.)	3 (контр.)
1. Исследуемая сыворотка (1:5)	0,5	0,5	-
2. Антиген в рабочей дозе	0,5	-	0,5
3Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4.Физиологический раствор	-	0,5	0,5
Инкубация при t 37^0 С — 40 минут.			
5. Гемолитическая система (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка)	1,0	1,0	1,0

Инкубация при t 37^0С — 40 минут.

Учет результатов _____ Гемолиз + Гемолиз +

Вывод:

При наличии антител в исследуемой сыворотке (положительная реакция) в опытной пробирке гемолиз отсутствует. При отрицательной реакции (нет антител) во всех трех пробирках наблюдается гемолиз.

Реакция связывания комплемента проходит в две фазы: 1-ая фаза — взаимодействие исследуемой сыворотки с антигеном и комплементом. 2-ая фаза — индикаторная — определение наличия в смеси свободного комплемента путем добавления гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к эритроцитам барана. Если в первой фазе реакции происходит образование комплекса антиген-антитело, комплемент связывается этим комплексом и во второй фазе гемолиз эритроцитов отсутствует (реакция положительная). Если антиген и антитело не соответствуют друг другу, комплемент в первой фазе реакции остается свободным и во второй фазе реакции присоединяется к комплексу эритроцит-гемолитическая сыворотка, вызывая гемолиз (реакция отрицательная).

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите правильные ответы:

1. Разновидностями реакции иммунного лизиса являются:

а) гемагглютинация;

б) гемолиз;

в) кольцепреципитация;

г) бактериолиз;

д) цитолиз.

2. Какие еще компоненты (кроме антигенов и антител) участвуют в реакции связывания комплемента?
а) бактерии;
б) комплемент;
в) эритроциты барана;
г) гемолитическая сыворотка;
д) физиологический раствор.
3. При постановке иммуноферментного анализа антитела или антигены метят:
а) пероксидазой;
б) флюорохромом;
в) радиоизотопом;
г) комплементом.
4. Наиболее современными серологическими реакциями являются:
а) реакция агглютинации;
б) реакция связывания комплемента;
в) иммуноферментный анализ;
г) полимеразная цепная реакция;
д) реакция иммунофлюоресценции.
5. Выявить наличие характерного для определенного микроорганизма участка нуклеиновой кислоты в исследуемом материале и многократно размножить его позволяет:
а) иммуноферментный анализ;
б) полимеразная цепная реакция;
в) радиоиммунный анализ;
г) реакция иммунофлюоресценции.

Практическое занятие №15

Тема: Иммунный статус

Учебная цель:

1.Изучить тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.

Студент должен знать:

1 Возрастные особенности иммунного статуса.
2. Методы исследования лимфоцитов, оценку функционального состояния фагоцитов,

Студент должен уметь:

1. Постановить и учесть функциональне состояние фагоцитов,
2. Определить активность комплемента крови

План занятия:

1. Иммунный статус и принципы его оценки.
2. Возрастные особенности иммунного статуса.
3. Методы исследования лимфоцитов, оценка функционального состояния фагоцитов,
4. Определение комплемента
6. Тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.

Самостоятельная работа студентов:

1.Постановка и учет функционального состояния фагоцитов,
2. Определение комплемента

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

Созревание иммунной реактивности плода

Тимус закладывается на втором месяце внутриутробной жизни в области третьего-четвертого жаберных карманов и на шестой неделе имеет выраженный эпителиальный характер. На 7—8 неделе он «заселяется» лимфоцитоподобными клетками. К концу третьего

месяца формирование органа заканчивается. В дальнейшем в тимусе наблюдаются лишь количественные изменения. Лимфатические узлы и другие вторичные органы иммунной системы закладываются на 4-м месяце, их окончательное формирование завершается в постнатальном периоде. Лимфоидные фолликулы, располагающиеся в подвздошной кишке и аппендиксе, в пейеровых бляшках, содержат «клетки предшественники» плазматических клеток. Они дозревают до плазматических клеток, синтезирующих IgA к 14—16 неделе внутриутробного развития плода.

Стволовые клетки появляются на 3—8 неделях эмбриогенеза и обнаруживаются в печени, кровяных островках желточного мешка. Позднее главным их местом образования становится костный мозг. Лимфоциты впервые обнаруживаются на 9 неделе в тимусе, на 12— 15 — в селезёнке. В крови лимфоцитоподобные клетки определяются с 8—10 недели. Лимфоидные клетки, наделенные функцией Т-лимфоцитов, выявляются на 10—11 неделе. В-клетки определяются в печени с 10— 12, в селезёнке — с 12 недели. Синтез и секреция IgM регистрируется в клетках на 11-й, IgG- на 22-ой неделе. Содержание IgM составляет 1/10 от материнского, а IgG — ещё меньше. Образование компонентов системы комплемента начинается у плода на 8-ой неделе беременности. При этом компоненты С2 и С4 синтезируются макрофагами, С5 и С4 — в печени, лёгких, перитоне-альных клетках, С3 и С1 — в тонкой и толстой кишке. На 18-ой неделе развития все указанные компоненты определяются в сыворотке крови плода. Клеточные и гуморальные факторы неспецифической антиинфекционной невосприимчивости появляются в раннем онтогенезе

В период эмбрионального развития «работа» иммунной системы имеет свои особенности. В частности, среди Т-зависимых иммунологических реакций первой проявляется способность к отторжению трансплантата (13 неделя), ГЗТ реализуется значительно позднее.

Несмотря на наличие в организме плода значительного количества В-клеток с иммуноглобулиновыми рецепторами, плазматических клеток, непосредственно синтезирующих АТ, очень мало. Ряд очень мощных факторов супрессирует функцию гуморального звена иммунной системы. Это хориотропный гонадотропин, а-фетопроте- ин, а-2-глобулин. Резко ограничено в этот период влияние на В-клет- ки Т-лимфоцитов и макрофагов.

Преждевременная активация иммунной системы наблюдается при внутриутробном инфицировании. Практически всегда это сопровож¬дается какими-либо иммунопатологическими расстройствами. Таким образом, для эмбрионального периода типичным этапом иммуногенеза является толерантность собственной иммунной системы и пассивный антительный иммунитет за счет материнских IgG, концентрация которых прогрессивно нарастает в процессе беремен¬ности. Способность плода образовывать компоненты системы ком¬племента неполноценна. В III триместре её уровень хотя и возраста¬ет, но составляет не более 30—50% показателей взрослых. Система местного иммунитета в раннем и позднем онтогенезе не развита.

Иммунный статус у детей после рождения

Здоровый доношенный ребёнок, рожденный здоровой матерью с физиологическим течением беременности, имеет определённый им¬мунный статус и соответствующий уровень факторов неспецифичес¬кой антиинфекционной резистентности. Своеобразный характер пассивного иммунитета новорождённого имеет положительные и отрицательные стороны. Так, не получая от матери IgM, плод не насыщается связанными с этим классом груп¬повыми изогемагглютининами, что снижает риск развития конфликта при несовпадении групповых эритроцитарных Аг. С другой стороны индуцируется низкая защита против грамотрицательных бактерий, поскольку в этой фракции преимущественно находятся АТ против указанных возбудителей. В момент рождения у ребенка наблюдается физиологический лей¬коцитоз, доходящий до 12—15 млрд кл\л. Из клеток более 35% со¬ставляют лимфоциты. Из общего числа лимфоцитов около полови¬ны составляют Т-

клетки. В относительных величинах их содержание умеренно снижено, а в абсолютных, учитывая высокий лейкоцитоз, не изменено. Около 60% всех Т-лимфоцитов составляют клетки с хелперными функциями, 15% — Т-супрессоры.

Содержание антителозависимых киллеров также сильно снижено от уровня взрослых. Функции лимфоцитов новорождённых изменены. Так, интенсивность реакции бластной трансформации, индуцированной Т-митогеном ФГА, «нормальна» или несколько снижена, чем у более старших детей. Уменьшена их способность продуцировать лимфоциты,

индуцировать кожные реакции. В то же время в клетках отмечается более высокий уровень метаболизма, если судить по интенсивности синтеза нуклеиновых кислот.

Количество В-клеток у новорождённых обычно повышено в относительных и абсолютных значениях. Как правило, на этих клетках обнаруживаются IgM и IgE рецепторы. В пуповинной крови новорождённых определяются IgM и IgG, IgA и IgE обнаруживаются крайне редко. Синтез IgM резко возрастает, достигая максимума на 2—3 нед жизни ребенка, затем к месячному возрасту снижается, в дальнейшем медленно возрастает, достигая к 6—12 мес уровня взрослых. Чрезмерное увеличение концентрации IgM у новорождённых является свидетельством перенесенного внутриутробного инфицирования. Чаще всего это сифилис, краснуха. Повышение уровня IgM в три раза является свидетельством наличия сепсиса у ребенка.

Концентрация IgG весьма незначительна при рождении, возрастает к 7—8 годам. У детей, вскармливаемых искусственно, эта динамика реализуется значительно быстрее. IgA в сыворотке крови новорождённых, как правило, отсутствуют в течение первого месяца жизни. В дальнейшем содержание иммуноглобулина медленно нарастает, составляя к концу первого года 28% от уровня этого белка у взрослых. Нормализация параметра достигается к 8—15 годам. IgD у новорождённых обычно не определяется. Появляется этот белок примерно на 6-й нед, достигая уровня взрослых к 5—10—15 годам. IgE также не обнаруживается у новорождённых, постепенно нарастая, он приближается к значениям взрослых людей к 11—12 годам. Ускорение накопления реагина является риском развития у детей бронхиальной астмы и других аллергических и особенно атопических заболеваний.

Известно, что содержание иммуноглобулинов определяется суммой АТ различной специфичности. Раньше других у детей появля-иммунных глобулинов оказывает влияние микрофлора организма ребёнка. Основным представителем кишечной микрофлоры в этот

период являются бифидумбактерии. Поэтому любые неблагоприятные факторы (искусственное вскармливание, применение антибиотиков) неизбежно влекут за собой нарушение видового состава микрофлоры и изменения спектра образующихся АТ. Антителообразование у новорождённых, как правило, протекает только по первичному типу, требующему для реализации большого количества Аг. Значительно замедлено переключение синтеза с IgM на IgG, в течении 5—20 дней у взрослых и 20—40 — у детей.

В момент рождения фагоциты и сыворотка крови новорождённых обладают определённой бактерицидной активностью против ряда микробных штаммов. Хемотаксис и функциональная активность макрофагов уменьшена. Частично это компенсируется увеличением содержания гранулоцитов, так же наделённых фагоцитирующей функцией. Однако, переваривающая способность этих клеток снижена за счёт незрелости ферментов.

Ребёнок рождается со сниженными, по сравнению со взрослыми, уровнями комплемента и пропердина, которые довольно быстро нарастают. Исходная активность лизоцима, напротив, значительна.

Содержание лизоцима в организме непостоянно, зависит от возраста, времени года, витаминного баланса и др. Больше всего лизоцима в слюне детей (до 200 мкг/мл), что во

много раз превышает его концентрацию в сыворотке крови. Наиболее высокое содержание лизоцима в слюне детей первого года жизни, в возрасте 1—6 лет оно снижается почти в 3 раза, к 7—15 годам возрастает, но не достигает исходного уровня. Важным фактором местного иммунитета является IgA, который находится в двух формах — сывороточной и секреторной. Этот у-глобулин играет основную роль в резистентности организма против респираторной, вирусной, бактериальной, паразитарной инфекции и т.д. Секреторный IgA начинает обнаруживаться в секретах первой и начале второй недель, продолжает прогрессивно нарастать в последующие месяцы и годы, в копрофильтрах обнаруживается с третьей недели жизни. Количество секретина постоянно пополняется за счет секреторного IgA молока и, особенно, молозива, где его количество в 20 раз и более превосходит уровень в сыворотке взрослого. Обычно после 3—5 дней лактации концентрация IgA резко снижается, но, учитывая возрастающее потребление молока ребенком, его количестваПлазматические клетки, расположенные в слизистых оболочках, образуют IgA, IgM, IgG, IgD, IgE. Стенка кишечника синтезирует до 3 г иммуноглобулинов в сутки. IgG обеспечивают защиту в основном против токсинов, остальные против бактерий и вирусов. Формирование полноценного местного иммунитета по разным данным завершается к одному-двенадцати годам жизни.

Соотношение плазматических клеток желудочно-кишечного трака, продуцирующих иммунные глобулины, при некоторых заболеваниях меняется. Так, у детей раннего возраста (от рождения и до трех лет) с хроническим гастродуоденитом наблюдается дефицит IgA и

увеличение продукции IgM. У пациентов с холециститом отмечается уменьшение концентрации IgA и увеличение IgM или IgG. При язвенной болезни 12-перстной кишки происходит падение уровня IgA в дуоденальном содержимом. Дефицит местного IgA облегчает связывание иммунных глобулинов других классов с Аг.

Местный иммунитет обусловливается не только гуморальными, но и клеточными факторами. Показано, что в первые 24 часа после рождения ребенка происходит резкое повышение количества альвеолярных макрофагов. Их число продолжает увеличиваться до месячного

возраста, после чего стабилизируется. Микробоцидные свойства макрофагов и других фагоцитирующих клеток, как правило, отстают у детей первых недель и даже месяцев жизни.

Состояние иммунной системы ребенка в первые годы жизни характеризуется высокой динамичностью. Так, после рождения снижается число лейкоцитов в циркуляции, повышается процентное содержание лимфоцитов, уменьшается количество гранулоцитов.

Перекрест между кривыми, отражающими динамику этих клеток, впервые происходит на 5 сутки жизни, после чего аналогичный перекрест (снижение удельного веса лимфоцитов и повышение нейтрофилов) отмечается только в возрасте 4—5 лет. Очень медленно

повышается относительное содержание Т-клеток, уровень В-лимфоцитов неуклонно снижается до нормы.

Таким образом, для эмбрионального периода типичной является толерантность и пассивный иммунитет за счет материнских IgG, концентрация которых нарастает в процессе беременности. У новорождённого также доминирует материнский пассивный иммунитет, хотя уже отмечается начало синтеза собственных АТ, наделённых малой12 месяцев иммунная реактивность созревает. В возрасте 1—3 лет отчетливо работает Т-клеточный иммунитет. В этот же период активно функционируют и В-лимфоциты.

Из изложенного следует, что организм новорождённого вплоть до годичного возраста плохо защищен от инфекционных агентов. Действует главным образом гуморальное звено иммунитета. Т-зависимые реакции и фагоцитоз развиты недостаточно и вступают в полную

силу позднее. Иногда лишь к периоду полового созревания. Учитывая все эти сведения назначение детям иммунотропных средств должно производиться крайне осторожно, чтобы не извратить естественные особенности реагирования, приняв за иммунные расстройства физиологические изменения иммунных реакций.

При многих заболеваниях у детей в патологический процесс рано вовлекаются печень и селезёнка. Эти органы во внутриутробном периоде осуществляют гемо- и лимфопоэз. Поэтому в ответ на повреждение или инфицирование плод отвечает активизацией ретикулоэндотелиальной системы. После рождения её значимость падает, заменяясь более совершенными механизмами. Однако, у части так называемых «медленно стартующих детей» с задержкой созревания иммунной системы возможна реакция на патогенную ситуацию указанных органов.

В настоящее время в жизни ребенка выделяют несколько критических периодов, которые характеризуются наибольшей ранимостью организма (Д.В. Стефани, Ю.Е. Вельтищев,1996).

Во внутриутробном периоде критическим следует считать возраст 8—12 нед, когда происходит дифференцировка органов и клеток иммунной системы. Первым критическим периодом после рождения является периодноворождённое™, когда организм подвергается действию огромного числа Аг. Иммунная система в это время подвержена сильным супрессорным влияниям, пассивный гуморальный иммунитет обусловлен материнскими АТ. Отмечается функциональный дисбаланс Т-лимфоцитов, супрессорную функцию реализуют не только CD8+-клетки, но и незрелые тимоциты и другие клетки.

Второй критический возраст (3—6 мес) характеризуется ослаблением пассивного гуморального иммунитета в связи с катаболизмом материнских АТ. При этом супрессорная направленность иммунных пеякттий сохоаняется пои наличии выраженного лимфоцитоза. Такой тип иммунного ответа наступает при вакцинации против столбняка, дифтерии, коклюша, полиомиелита, кори и только после 2-3-й ревакцинации развивается вторичный иммунный ответ с образованием IgG АТ и стойкая иммунная память.

Третий критический период — 1-й год жизни. В это время сохраняется первичный характер иммунного ответа на многие Аг, однако уже возможно переключение на образование IgG-АТ. Однако синтез субклассов IgG2 и lgG4 запаздывает. Супрессорная направленность иммунных механизмов начинает сменяться хелперной. Система местного иммунитета не развита, дети чувствительны к респираторным вирусным инфекциям. Четвертый критический период — 4—6-й годы жизни. В этом возрасте средняя концентрация IgG и IgM в крови соответствует таковой у взрослых, концентрация IgA в плазме еще не достигает окончательных значений, содержание IgE в крови достигает максимальных величин. Данный период характеризуется высокой частотой атопи-ческих, паразитарных, иммунокомплексных заболеваний.

Пятый критический период — подростковый возраст (у девочек с 12—13, у мальчиков с 14—15 лет). Пубертатный скачок роста сочетается с уменьшением массы лимфоидных органов. Повышение секреции половых гормонов (прежде всего андрогенов) ведет к подавлению клеточного звена иммунитета и стимуляции его гуморальных механизмов. В целом у детей встречаются следующие особенности звеньев иммууного статуса. Т — звено иммунитета. Количество лимфоцитов периферической крови при рождении в первые сутки жизни составляет 24—30%, а абсолютное число — 3—9 • Ю'/л. Затем их относительное количество нарастает и к 4—5-м суткам достигает 40—50%, абсолютное — 2,5— 10 млрд/л.

Лимфоциты новорождённых отличаются высокой метаболической активностью, в них увеличен синтез ДНК. и РНК. БТЛ при культивировании с ФГА хорошо выражена как у доношенных, так и у недоношенных новорождённых. Отмечается высокий уровень спонтанной трансформации, в среднем около 6—10%, тогда как у взрослых этот показатель составляет около 0,2%. В — звено иммунитета. Система гуморального иммунитета в отличие

от клеточного начинает активно функционировать лишь после рождения под влиянием антигенного раздражения. При рождении ребёнка содержание IgG в его крови обычно больше, чем у матери,так как трансплацентарный переход этого иммуноглобулина является активным процессом. IgM в сыворотке обычно отсутствуют или определяются в минимальных количествах. IgA обычно отсутствуют или находятся в следовых концентрациях. К концу первой недели содержание IgA и IgM несколько возрастает, IgG — ко 2—3-й неделе заметно снижается и достигает минимальных концентраций в возрасте 1—4 мес.

Фагоцитарное звено. Число нейтрофилов в крови при рождении относительно велико: 50—70% и 4,5—20 млрд/л. С 4-х суток оно начинает снижаться до 30—40% — 2,5—6 млрд/л. Моноциты в течении всего периода новорождённое™ составляют 4—9 % — 0,6—2 млрд/л. Поглотительная способность нейтрофилов новорождённых не снижена, однако переваривающая активность снижена, что приводит к незавершённому фагоцитозу. Число НСТ-положительных нейтрофилов в спонтанной реакции у детей первых 2 нед жизни составляет 14— 20%, тогда как у более старших детей — 2—10%. Подъем числа этих клеток в индуцированном тесте невысок, т.е. фагоцитарный резерв клеток у детей в возрасте двух недель невелик. Моноциты новорождённых характеризуются низкой бактерицидной активностью и недостаточной миграционной способностью.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

КЛАССЫ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

IgA , Ig M, IgF, IgE , IgD
IgA , IgM , IgG , IgE , IgD (+)
IgA , Ig M, IgG , Ig E, IgF
Ig M, IgG , Ig E, IgF, IgD
IgA , IgG , Ig E, IgF, IgD

ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ОБЩЕГО IgE ХАРАКТЕРИЗУЕТ

гельминтозы, аллергию
аллергию, аутоиммунные заболевания
гельминтозы, иммунодефициты
иммунодефициты, аллергию
гельминтозы, вирусные инфекции

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ НЕДОСТАТОЧНОСТИ С-4 КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА

ревматоидный артрит
туберкулез
периодическая болезнь
альвеолит
СКВ

КАСКАДНАЯ СИСТЕМА СЫВОРОТКИ КРОВИ, СПОСОБНАЯ ВЫЗВАТЬ ЛИЗИС КЛЕТОК, ЭТО

система комплемента
цитокиновая сеть
интерфероны
калекреин-кининовая система
иммуноглобулины

У БОЛЬНОГО АЛЛЕРГИЯ К ЙОДУ, ЕМУ ПРОТИВОПОКАЗАНО

бутадион
бруфен
энтеросептол

Практическое занятие №16

Тема: Иммунодефициты
Учебная цель:
1.Изучить патогенез вторичных иммунодефицитов
2.Изучить генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
3. Изучить врожденные иммунодефициты
Студент должен знать:
1. Генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
2. Вторичнуюя иммунологическую недостаточность (ВИН) – классификацию, этиологию, диагностику
Студент должен уметь:
1. Оценить и итнерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности

План занятия

1. Генетика иммунодефицитов, особенности наследования.
2. Врожденные иммунодефициты (классификация, диагностика)
3. Врожденные иммунодефициты у детей.
4. Вторичная иммунологическая недостаточность (ВИН) – классификация, этиология, диагностика

Самостоятельная работа студентов:

1.Оценить и итнерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности по готовым иммунограммам

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

Иммунодефициты (ИДС) — нарушения иммунологической реактивности, обусловленные выпадением одного или нескольких компонентов иммунного аппарата или тесно взаимодействующих с ним неспецифических факторов.
Единой классификации не существует. По происхождению иммунодефициты делят на первичные и вторичные.Содержание [убрать]

1 Первичные иммунодефициты
1.1 Определение и классификация
1.2 Клиническая картина ИДС
1.3 Лечение первичных ИДС
2 Вторичные иммунодефициты
2.1 Причины
2.2 Лечение вторичных ИДС

Определение и классификация

Первичные иммунодефициты — это врожденные (генетические или эмбриопатии) дефекты иммунной системы. В зависимости от уровня нарушений и локализации дефекта они бывают:
гуморальные или антительные — с преимущественным поражением системы В-лимфоцитов)
Х-сцепленная агаммаглобулинемия (болезнь Брутона)
Гипер-IgM синдром
Х-сцепленная
аутосомно-рецессивная
делеция генов тяжелых цепей иммуноглобулинов
дефицит k-цепей

селективный дефицит субклассов IgG с или без дефицита IgA
дефицит антител с нормальным уровнем иммуноглобулинов
общая вариабельная иммунная недостаточность
дефицит IgA
клеточные
синдром Ди Джоржи
первичный дефицит CD4 клеток
дефицит CD7 Т-клеток
дефицит ИЛ-2
множественная недостаточность цитокинов
дефект передачи сигнала
комбинированные:
синдром Вискотта-Олдрича
атаксия-телеангиоэктазия (синдром Луи-Бар)
тяжелая комбинированная иммунная недостаточность
Х-сцепленная с полом
аутосомно-рециссивная
дефицит аденозиндезаминазы
дефицит пуриннуклеозидфосфорилазы
дефицит молекул II класса MHC (синдром лысых лимфоцитов)
ретикулярная дизгенезия
дефицит CD3γ или CD3ε
дефицит CD8 лимфоцитов
недостаточность системы комплемента
дефекты фагоцитоза
наследственные нейтропении
инфантильный летальный агранулоцитоз (болезнь Костмана)
циклическая нейтропения
семейная доброкачественная нейтропения
дефекты фагоцитарной функции
хроническая гранулематозная болезнь
Х-сцепленная
аутосомно-рециссивная
дефицит адгезии лимфоцитов I типа
дефицит адгезии лейкоцитов 2 типа
дефицит глюкозо-6-дегидроегназы нейтрофилов
дефицит миелопероксидазы
дефицит вторичных гранул
синдром Швахмана
Клиническая картина ИДС
Клиника имеет ряд общих черт:
1. Рецидивирующие и хронические инфекции верхних дыхательных путей, придаточных пазух, кожи, слизистых оболочек, желудочно-кишечного тракта, часто вызываемые оппортунистическими бактериями, простейшими, грибами, имеющие тенденцию к генерализации, септицемии и торпидные к обычной терапии.
2. Гематологические дефициты: лейкоцитопении, тромбоцитопении, анемии (гемолитические и мегалобластические).
3. Аутоиммунные расстройства: СКВ-подобный синдром, артриты, склеродермия, хронический активный гепатит, тиреоидит.
4. Нередко ИДС сочетается с аллергическими реакциями 1 типа в виде экземы, отека Квинке, аллергическими реакциями на введение лекарственных препаратов, иммуноглобулина, крови.

5.Опухоли и лимфопролиферативные заболевания при ИДС встречаются в 1000 раз чаще, чем без ИДС. [1]
6. У больных с ИДС часто отмечаются расстройства пищеварения, диарейный синдром и синдром мальабсорбции.
7. Больные с ИДС отличаются необычными реакциями на вакцинацию, а применение у них живых вакцин опасно развитием сепсиса.
8. Первичные ИДС часто сочетаются с пороками развития, прежде всего с гипоплазией клеточных элементов хряща и волос. Кардиоваскулярные пороки описаны, главным образом, при синдроме Ди-Джоржи.
[править]
Лечение первичных ИДС

Этиотропная терапия заключается в коррекции генетического дефекта методами генной инженерии. Но такой подход является экспериментальным. Основные усилия при установленном первичном ИДС направлены на:
профилактику инфекций
заместительную коррекцию дефектного звена иммунной системы в виде трансплантации костного мозга, замещения иммуноглобулинов, переливания нейтрофилов.
заместительную терапию ферментами
терапию цитокинами
витаминотерапию
лечение сопутствующих инфекций
Вторичные иммунодефициты
Факторы, способные вызвать вторичный иммунодефицит, весьма разнообразны. Вторичный иммунодефицит может быть вызван как факторами внешней среды, так и внутренними факторами организма. В целом, все неблагоприятные факторы окружающей среды, способные нарушить обмен веществ организма, могут стать причиной развития вторичного иммунодефицита. К наиболее распространенным факторам окружающей среды, вызывающим иммунодефицит относятся загрязнения окружающей среды, ионизирующее и СВЧ излучение, острые и хронические отравления, длительный прием некоторых лекарственных препаратов, хронический стресс и переутомление. Общей чертой описанных выше факторов является комплексное негативное воздействие на все системы организма, в том числе и на иммунную систему. Кроме того, такие факторы как ионизирующее излучение оказывают избирательное ингибирующее действие на иммунитет связанное с угнетением системы кроветворения. Люди, проживающие или работающие в условиях загрязненной окружающей среды, чаще болеют различными инфекционными заболеваниями и чаще страдают онкологическими болезнями. Очевидно, что такое повышение заболеваемости у этой категории людей связано со снижением активности иммунной системы.
Причины
Вторичные иммунодефициты являются частым осложнением многих заболеваний и состояний. Основные причины вторичных ИДС:
дефект питания и общее истощение организма также приводит к снижению иммунитета. На фоне общего истощения организма нарушается работа всех внутренних органов. Иммунная система особенно чувствительна к недостатку витаминов, минералов и питательных веществ, так как осуществление иммунной защиты это энергоемкий процесс. Часто снижение иммунитета наблюдается во время сезонной витаминной недостаточности (зима-весна)
хронические бактериальные и вирусные инфекции, а также паразитарные инвазии (туберкулёз, стафилококкоз, пневмококкоз, герпес, хронические вирусные гепатиты,

краснуха, ВИЧ, малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, аскаридоз и др.). При различных хронических заболеваниях инфекционного характера иммунная система претерпевает серьёзные изменения: нарушается иммунореактивность, развивается повышенная сенсибилизация по отношению к различным антигенам микробов. Кроме того, на фоне хронического инфекционного процесса наблюдается интоксикация организма и угнетение функции кроветворения. Иммунодефицит во время инфекции ВИЧ опосредован избирательным поражением клеток иммунной системы вирусом

гельминтозы

потеря факторов иммунной защиты наблюдается во время сильных потерь крови, при ожогах или при заболеваниях почек (протеинурия, ХПН). Общей особенностью этих патологий является значительная потеря плазмы крови или растворенных в ней белков, часть их которых является иммуноглобулинами и другими компонентами иммунной системы (белки системы комплимента, С-реактивный белок). Во время кровотечений теряется не только плазма, но и клетки крови, поэтому на фоне сильного кровотечения снижение иммунитета имеет комбинированный характер (клеточно-гуморальный)

диарейный синдром

стресс-синдром

тяжелые травмы и операции также протекают со снижением функции иммунной системы. Вообще любое серьёзное заболевание организма приводит к вторичному иммунодефициту. Отчасти это связано с нарушением обмена веществ и интоксикацией организма, а отчасти с тем, что во время травм или операций выделяются большие количества гормонов надпочечников, которые угнетают функцию иммунной системы

эндокринопатии (СД, гипотиреоз, гипертиреоз) приводят к снижению иммунитета за счет нарушения обмена веществ организма. Наиболее выраженное снижение иммунной реактивности организма наблюдается при сахарном диабете и гипотиреозе. При этих заболеваниях снижается выработка энергии в тканях, что приводит к нарушению процессов деления и дифференциации клеток, в том числе и клеток иммунной системы. На фоне сахарного диабета частота различных инфекционных заболеваний значительно повышается. Связано это не только с угнетением функции иммунной системы, но и с тем, что повышенное содержание глюкозы в крови больных диабетом стимулирует размножение бактерий

острые и хронические отравления различными ксенобиотиками (химическими токсичными веществами, лекарственными препаратами, наркотическими средствами). Особенно выражено снижение иммунной защиты во время приема цитостатиков, глюкокортикоидных гормонов, антиметаболитов, антибиотиков

низкая масса тела при рождении

снижение иммунной защиты у людей старческого возраста, беременных женщин и детей связано с возрастными и физиологическими особенностями организма этих категорий людей

злокачественные новообразования – нарушают деятельность всех систем организма. Наиболее выраженное снижение иммунитета наблюдается в случае злокачественных заболеваний крови (лейкемия) и при замещении красного костного мозга метастазами опухолей. На фоне лейкемии количество иммунных клеток в крови порой повышается в десятки, сотни и тысячи раз, однако эти клетки нефункциональны и потому не могут обеспечить нормальной иммунной защиты организма

аутоиммунные заболевания возникают из-за нарушения функции иммунной системы. На фоне заболеваний этого типа и при их лечении иммунная система работает недостаточно и, порой, неправильно, что приводит к повреждению собственных тканей и неспособности побороть инфекцию

Лечение вторичных ИДС

Механизмы подавления иммунитета при вторичных ИДС различны, и, как правило, имеется сочетание нескольких механизмов, нарушения иммунной системы выражены в меньшей степени, чем при первичных. Как правило, вторичные иммунодефициты носят приходящий характер. В связи с этим лечение вторичных иммунодефицитов гораздо проще и эффективнее по сравнению с лечением первичных нарушений функции иммунной системы. Обычно лечение вторичного иммунодефицита начинают с определения и устранения причины его возникновения. Например, лечение иммунодефицита на фоне хронических инфекций начинают с санации очагов хронического воспаления. Иммунодефицит на фоне витаминно-минеральной недостаточности начинают лечить при помощи комплексов витаминов и минералов. Восстановительные способности иммунной системы велики, поэтому устранение причины иммунодефицита, как правило, приводит к восстановлению иммунной системы. Для ускорения выздоровления и стимуляции иммунитета проводят курс лечения иммуностимулирующими препаратами. В настоящее время известно большое число иммуностимулирующих препаратов, с различными механизмами действия.

Рекомендуемая литература:

1. Шабалов Н. П. Детские болезни, Питер, Медицинская Литература, 2000, с.989-1027
2. Долгих В. Т. Основы иммунопатологии, Феникс, Ростов-на-Дону, 2007, с.119-158
3. Стефани Д. В., Вельтищев Ю. Е. Иммунология и иммунопатология, Москва, Медицина, 1996, с.88-170
4. Хаитов Р.М., Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение, 1999
6. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии, М., 2002
7. Забродский П. Ф., Мандыч В. Г. Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография. Саратов, СВИБХБ, 2007. 420 с. 2007

ПРИМЕРЫ СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ:

Задача 1. У больного К. 15 лет в иммунограмме выявлены следующие изменения.

ПОКАЗАТЕЛЬ	В НОРМЕ	У ОБСЛЕДУЕМОГО
CD3+лимфоциты в%	60-80	73
CD4+ лимфоциты в%	33-50	40
CD8+лимфоциты в%	16-39	29
CD16+лимфоциты в%	3-10	7
CD20+лимфоциты в%	6-23	21
Индекс CD4+/CD8+	1,5-2,0	1,5
Фагоцитарная активность %	50-90	68
Фагоцитарное число	2-9	5
Фагоцитарный резерв %		65
IgG, г/л	0,9-4,5	6,0
IgA, г/л	8-20	2
IgM, г/л	0,6-2,5	1,8

Вопросы:

1. Какое звено иммунитета нарушено по результатам представленной иммунограммы?
2. Какой иммунологический диагноз Вы поставите больному по изменениям в иммунограмме?
3. Какие иммуномодуляторы можно назначить больному для коррекции выявленных изменений?

4. Когда необходимо провести повторное иммунологическое обследование после иммунокоррекции?
5. Какие наиболее часто встречаемые жалобы предъявляет больной с диагнозом иммунологической недостаточности?

Ответы:

1. Гуморальное звено иммунитета.
2. Гипоиммуноглобулинемия (снижение содержания IgA).
3. Рибомунил, Бронхомунал, ИРС-19, Ликопид.
4. Не раньше чем через 2 недели после окончания терапии.
5. Частые простудные заболевания, длительное течение инфекционных заболеваний, наличие заболеваний, вызванных условно-патогенной флорой, частые обострения любых хронических заболеваний.

Задача 2. Больной 40 лет обратился с жалобами на эпизоды чихания (от 10 до 30 раз подряд), на обильные выделение водянистого секрета, приводящим к гиперемии – раздражению кожи крыльев носа и верхней губы, нарушение носового дыхания, зуд носа, нёба, глаз, слезотечение. Данные симптомы проявляются в летнее время и наиболее выражены с утра. Также больной отмечает легкую утомляемость, отсутствие аппетита, раздражительность.

Вопросы:

1. Ваш предположительный диагноз?
2. Какой объём аллергологического обследования Вы назначите пациенту?
3. Какие группы препаратов показаны в данном клиническом случае?
4. В каком случае Вы бы назначили местную гормональную терапию в виде спрея?
5. Возможно ли проведение специфической иммунотерапии у данного больного?

Ответы:

1. Аллергический ринит.
2. Общей анализ крови, иммунологическое обследование, определение IgE-общего, IgE-специфического, проведение кожных проб.
3. Антигистаминные, стабилизаторы мембран тучных клеток, применение гормональных назальных спреев, проведение СИТ.
4. В случае выраженного обострения аллергического ринита.
5. Да.

Задача 3. Больной М, 13 лет, перенёс операцию по поводу гангренозно-перфоративного аппендицита, диффузного перитонита. Течение послеоперационного периода осложнилось нижнедолевой левосторонней пневмонией. В иммунограмме отмечается лейкоцитоз, лимфопения, снижение показателей CD3+клеток, CD4+клеток, CD8+клеток, снижение ИРИ.

Вопросы:

1.Каково иммунологическое заключение?

2.Какая иммунокоррекция в сочетание с терапией антибиотиками показана в данном случае?

Ответы:

1.Вторичная иммунологическая недостаточность по Т-клеточному звену.

2.Назначение Т-иммуностимуляторов, вариантом выбора является “Имунофан”.

Задача 4. Больная П., 29 лет поступила по “03” с направительным диагнозом острый сывороточноподобный синдром в аллергологическое отделение ГКБ. При поступлении

беспокоили артралгии, одышка, лихорадка, кожный зуд, заложенность носа, кашель со скудной мокротой, гнойное отделяемое из левого уха.

Из анамнеза известно, что месяц назад лечилась по поводу острого гнойного отита и ангины антибиотиком аугументином в течение 7 дней без эффекта, в течение месяца сохранялся субфебрилитет, потливость, познабливание, наблюдалась в поликлинике, где проходила курс физио- и лазеротерапии. В течение последних 5 суток перед поступление в отделение состояние средней тяжести. на коже вокруг суставов геморрагическая сыпь, лимфаденит, herpes labialis. Также у больной язвенно-некротический стоматит, левосторонний острый средний отит, отомикоз, грибковое поражение слизистой носа и глотки, васкулит, артралгии, лихорадка, выраженная слабость. В анализах крови лейкоцитоз, гиперглобулинемия, повышение уровня трансаминаз и сахара крови, высокие СОЭ и С-реактивный белок, протеинурия.

Вопросы:

1.Ваш предположительный диагноз?

2.Будут ли изменения в иммунограмме при данной патологии, и какие?

Ответы:

1.Гранулематоз Вегенера.

2.Изменения лабораторных и иммунологических показателей при гранулематозе Вегенера свидетельствуют о наличие системного воспалительного процесса и поражении органов-мишеней. Специфичными для данной патологии являются АНЦА – антинейтрофильные цитоплазматические антитела.

Практическое занятие №17

Сдача модуля: «Инфекционная иммунология. Реакции иммунитета.Иммунный статус. Иммунодефициты».

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

ОСЕННИЙ СЕМЕСТР

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в осеннем семестре. Указания составлены в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом Высшего и профессионального образования.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:
Л.В. Бибаева -д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.
А.Р. Кусова-д.м.н., профессор зав. кафедрой общей гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Методические рекомендации утверждены на заседании ЦКУМС ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России от 22.03.2022г., протокол № 4

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1.

ТЕМА: *СТАФИЛОКОККИ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТАФИЛОКОККОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.*

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить биологические свойства стафилококков.
2. Изучить методы микробиологической диагностики стафилококковых заболеваний.

Студент должен знать:

1.Морфологию, культуральные, тинкториальные свойства стафилококков и стрептококков.Ферментативная активность.

2.Факторы патогенности и токсины. Их роль в патогенезе стафилококковых инфекций.

3. Основные заболевания вызываемые стафилококками, Патогенез, особенности иммунитета при стафилококковой инфекции. Источники и пути передачи инфекции.

4. Принципы микробиологической диагностики, основной метод исследования, схема идентификации выделенной чистой культуры, фаготипирование.

5.Специфическая профилактика и терапия стафилококковых инфекций.

Студент должен уметь:

1.Проведение бактериологического исследования (по схеме). Учет и интерпритация результатов.

2. Приготовление мазка и окраска по Граму.

3. Световая микроскопия препаратов из чистых культур стафилококков, стрептококков.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ:

1. Морфология, культуральные и биохимические свойства стафилококка.
2. Факторы вирулентности стафилококка.
3. Антигены стафилококка.
4. Заболевания, вызываемые стафилококком.
5. Методы диагностики и исследуемый материал при стафилококковых заболеваниях.
6. Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ:

1. Изучить морфологию стафилококка в мазке из чистой культуры, описать, зарисовать.
2. Дать макроскопическую характеристику колоний на молочно-солевом агаре (бактериологический метод диагностики, 1-й этап исследования).
3. Идентифицировать культуру стафилококка по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, определить факторы вирулентности (2-й этап бактериологического метода):

а) учет результатов посева культуры стафилококка на кровяной агар с цель определения гемолизина.

б) учет результатов посева в цитратную плазму для определения плазмокоагулазы.

в) учет результатов посева на желточно-солевой агар с целью определения лецитиназы.

г) учет результатов посева на среду с маннитом.

4. Описать препараты для специфической терапии и профилактики стафилококковых заболеваний (стафилококковый анатоксин,

антистафилококковая плазма, противостафилококковый иммуноглобулин, стафилококковый бактериофаг).

5. Оформление протокола исследования.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Основной метод диагностики стафилококковых заболеваний - бактериологический. Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на желточно-солевой, кровяной или молочно-солевой агары. Выросшие изолированные колонии пересевают на скошенный агар для получения чистой культуры.

Идентификацию чистой культуры проводят по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, затем определяют факторы вирулентности.

I. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ.

На чашку с кровяным агаром сделан посев культуры стафилококка. Чашки оставляют в термостате на 24 часа при температуре 37 градусов.

При оценке результатов обращают внимание на зоны гемолиза, т.е. просветление среды вокруг выросших колонии. Гемолитические свойства бактерий связаны с наличием гемолизина (экзотоксина).

II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЦИТИНАЗЫ

На чашку с желточно-солевым агаром сделан посев стафилококка. Чашки оставляют в термостате на 24 часа.

При оценке результатов учитывают наличие венчиков помутнения вокруг колоний, что свидетельствует об образовании стафилококком фермента лецитиназы.

III. ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ФЕРМЕНТА ПЛАЗМОКОАГУЛАЗЫ

Производят посев культуры стафилококка в цитратную плазму. Пробирки ставят в термостат. Результаты учитывают через 24 часа. При наличии фермента плазмокоагулазы происходит коагуляция плазмы с образованием сгустка фибрина. Наличие фермента плазмокоагулазы является основным идентификационным признаком вида S.aureus, который нередко является возбудителем внутрибольничной инфекции.

IV.ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ МАННИТА В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Для определения этого признака, подтверждающего принадлежность чистой культуры стафилококка к наиболее агрессивному виду S.aureus, сделан посев в среду с маннитом. При расщеплении маннита образуются кислые продукты, которые изменяют цвет индикатора в среде (индикатор Андреде - дает красную окраску среды, а индикатор ВР - синюю).

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

Информационный материал к теме

Из 14 видов стафилококков, обитающих на коже и слизистых оболочках человека, преобладают и чаще вызывают заболевания: S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus. Стафилококки- грамположительные кокки, неподвижны, спор и капсул не образуют, в

мазках располагаются скоплениями в виде « гроздьев винограда». **Культуральные свойства**. Не требовательны к питательным средам: культивируются на МПА с образованием пигментированных колоний желтого или белого цвета, в МПБ дают диффузно- мутящий рост. Для идентификации стафилококков имеет значение характер роста на кровяном агаре (зона гемолиза) и желточно-солевом агаре (ЖСА) (определение лецитиназы).

Биохимические свойства. Стафилококки расщепляют углеводы до кислоты. Важным дифференцирующим признаком различных видов стафилококков является образование кислоты из маннита в аэробных и анаэробных условиях.

Факторы патогенности.

1.Факторы адгезии:

-тейхоевые кислоты обеспечивают адгезию на клетках организма;

« госпитальный штаммы» S.epidermidis вырабатывают особый вид слизи, обеспечивающий их прикрепление к полимерным материалам катетеров, искусственных клапанов сердца и создание на них бактериальной биопленки. Это происходит к развитию сепсиса и эндокардита, обусловленных « госпитальными штаммами» S.epidermidis.

2.Белок А неспецифические связывает Fc- фрагмент IqQ что приводит к угнетению фагоцитоза, функции комплемента и опсонизирующиего действия антител.

3.Эклипсные антигены, имеющие антигенную общность с клетками кожи и почек человека.

4. Ферменты патогенности:

–гиалуронидаза, расщепляет гиалуроновую кислоту в составе соединительной ткани, что способствует распространению стафилококков;

-плазмокоагулаза вызывает свертывание белков сыворотки крови, образуя фибриновую «псевдокапсулу», защищающую стафилококки от фагоцитоза

-Плазмокоагулаза является одним из важных маркеров различных видов стафилококков для дифференциации. S.aureus имеет плазмокоагулазу и относится к коагулазоположительным стафилококкам; S.epidermidis и S. Saprophyticus не имеют плазмокоагулазы и относятся к коагулазоотрицательным (КОС).

-фибринолизин расщепляет фибрин и способствует расщеплению стафилококков в организме;

-лецитиназа разрушает липидные мембраны клеток организма;

-нуклеазы (РНК-азы, ДНК-азы) расщепляют молекулы ДНК и РНК, что приводит к разрушению синтеза белка в клетках и ихгибели;

-β-лактамазы разрушает -β-лактамные антибиотики (пенициллины, цефалоспорины).

5.**Экзотоксины:**

-гемолизины 4-х типов, в основном обладающих гемолитическим и цитотоксическим действием;

-лейкоцидин разрушает лейкоциты;

эксфолиатины вызывают повреждение и отслойку эпидермиса с накоплением жидкости и образованием пузырей, обуславливая развитие синдрома «ошпаренной кожи» (синдром Лайелла);

-экзотоксин токсического шока (ЭШТ) вызывает системное поражение организма в виде синдрома токсического шока (СТШ) с высокой летальностью;

-энтеротоксины вызывают симптоматику острого пищевого отравления. Все токсины, кроме гемолизинов, продуцирует только S.aureus.

6.**R- плазмиды (**факторы множественной лекарственной устойчивости**).**

S.aureus- распространен повсеместно, входят в состав факультативной микрофлоры кожи и слизистых оболочек носа и носоглотки.

Источники инфекции являются больной человек и бактерионоситель. Часто формируется носительство у медперсонала.

Пути заражения: воздушно-капельный, контактный, алиментарный. У лиц со сниженной резистентностью возможен эндогенный способ заражения.

Нозологические формы инфекций, вызываемых S.aureus, многообразны, т.к. поражаются любые ткани и органы.

S.epidermidis колонизирует кожу и слизистые оболочки. Наиболее часто вызывает внутрибольничные, ятрогенные инфекции: сепсис, эндокардит, урологическую инфекцию, что связано с колонизацией этими микроорганизмами искусственных клапанов сердца, катетеров, протезов сосудов.

S. Saprophyticus колонизирует слизистые оболочки урогенитального тракта и вызывает воспаление различных отделов мочеполовых путей у людей с пониженной резистентностью.

Основные нозологические формы стафилококковых инфекций

Формы заболевания	Материал для исследования
Локальные	
Гнойные поражения кожи (фурункулы,карбункулы,абсцессы. Флегмоны)	Гнойное отделяемое, гнойное содержимое
Мастита	Грудное молоко, гной из абсцесса
Ангина, тонзиллит	Мазок из зева, с миндалин
Пневмония, бронхопневмония	Мокрота, промывные воды бронхов, кровь
Артрит	Суставная жидкость
Конъюнктивы	Гнойное отделяемое конъюктивы
Инфекции мочевыводящих путей	Моча
Пищевые отравления	Промывные воды желудка, рвотные массы, фекалий, остатки пищи
Генерализованные	
Сепсис	
Эндокардит	
Менингит	
Гематогенный остеомиелит	
Синдром токсического шока (СТШ)	Отделяемое из влагалища, кровь

Специфическое лечение стафилококковых инфекций

Острые стафилококковые инфекции	Хронические стафилококковые инфекции
Иммуноглобулин стафилококковый человеческий	Анатоксин стафилококковый очищенный жидкий
Стафилококковый бактериофаг	Убитая стафилококковая вакцина, химические стафилококковые вакцины на основе протективных антигенов

Стрептококки - грамположительные кокки, неподвижны, спор и капсул не образуют, в мазках располагаются цепочками.

Культуральные свойства. Стрептококки требовательны к питательным средам. В сахарном бульоне дают придонно-пристеночный тип роста. На кровяном агаре образуют мелкие выпуклые колонии. Факультативные анаэробы.

По характеру роста на кровяном агаре выделяют 3 группы стрептококков:

1) α- гемолитические образуют вокруг колоний зону позеленения («зеленящие стрептококки») в результате превращения гемоглобина в метгемоглобин;
2) β-гемолитические вызывают полный лизис эритроцитов и образуют вокруг колоний прозрачную зону;

3) γ-стрептококки не вызывают гемолиза и относятся к негомолитическим.

Биохимические свойства. При идентификации стрептококков учитывают их способность ферментировать углеводы, расти на средах с желчью, а также на средах с высокой концентрацией NaCI и редуцировать в молоке метиленовый синий.

Антигенная структура. По антигенной структуре (полисахаридные антигены клеточной стенки) Р.Ленсфильд разделила стрептококки на 20 серогрупп – А, В, С, и т.д. К стрептококкам группы А относят - S.pyoqenes (β-гемолитические - стрептококк), наиболее патогенный вид.

α- гемолитические стрептококки в большинстве входят в состав нормальной микрофлоры («оральные стрептококки «, энтерококки), но могут вызывать патологию у человека при снижении резидентности организма.

Негемолитические стрептококки входят в состав облигатной микрофлоры слизистых оболочек человека и обычно не вызывают патологических процессов.

Наиболее эпидеимологичеки значимым для человека является вид S.pyoqenes, обладающий значимым набором **факторов патогенности:**

1. Факторы адгезии: липотейхоевая кислота клеточной стенки;
2. Белок М обеспечивает не только адгезию, но и подавление фагоцитоза;
3. Эклипсные антигены имеющие антигенную общность с тканью сердца и почек.

Ферменты патогенности:

-гиалуронидаза – способствует перемещению микробов по соединительной ткани;

-фибринолизин (стрептокиназа)- вызывает растворение фибриновых тромбов, способствует распространению по кровеносному руслу;

-ДНК-аза- разрушает молекулы ДНК.

Экзотоксины:

-гемолизины (О- и S- стрептолизины) – оказывают гемолитическое и цитотоксическое действие на кардиомиоциты и фагоциты;

-эритрогенные (пирогенные)- приводят к образованию высыпаний на коже, оказывают пирогенное действие, вызывают развитие синдрома токсического шока.

Источник инфекции:больной человек и бактерионоситель.

Пути заражения: воздушно-капельный, контактный, для S aqalactiae – интранатальный (во время родов).

Основным методом микробиологической диагностики стрептококковых инфекций является бактериологический.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап (день исследования)	Ход исследования	Результат
1-ый	Микроскопия мазков из гноя, окрашенных по Граму Посев гоня в чашки с желчно-солевым агаром	Среди лейкоцитов видны Гр + коккки, раположенные небольшими гроздьми, а также по одиночке и попарно. Рост колоний средних размеров с помутнением вокруг колоний и радужным венчиком
2 - ый	Микроскопия мазков из отобранных колоний, окрашенных по Граму Отсев колоний с радужным венчиком на скошенный агар	В поле зрения видны Гр + кокки, расположенной формы
3-ый	Идентификация выделенной	

	чистой культуры. Определение признаков патогенности: а) микроскопия мазка, окрашенного по Граму; б) посев на среды Гисса с маннитом и глюкозой в анаэробных и анаэробных условиях; в) определение гиалуронидазной активности, плазмокоагуляции, ДНК-азы; г) определение α- гемолизина на чашках с кровяным агаром; д) фаготипирование. Проверка чувствительгности к антибиотикам методом бумажных дисков.	
4-ый	Заключение по проведенному исследованию	Выделена культура патогенного стафилркокка. Фаготип ------ чувствительна к следующим антибиотикам

Скарлатина - острое инфекционное заболевание, проявляющееся мелкоточечной сыпью, лихорадкой, общей интоксикацией, ангиной. Возбудитель болезни – стрептококк группы А (Streptococcus pyogenes). Заражение происходит от больных воздушно-капельным путем (при кашле, чихании, разговоре), а также через предметы обихода (посуда, игрушки, белье). Особенно опасны больные как источники инфекции в первые дни болезни.

Источниками возбудителя инфекции являются больной скарлатиной или любой другой клинической формой стрептококковой инфекции и бактерионоситель. Чаще болеют дети 3—10 лет, посещающие детские дошкольные учреждения и школу. Появлению случаев скарлатины в детских учреждениях, как правило, предшествует повышенный уровень заболеваемости ангинами и острыми респираторными вирусными инфекциями. Дети первого года жизни (особенно первого полугодия) и взрослые скарлатиной болеют редко. Основной путь передачи возбудителя инфекции — воздушно-капельный.

Патогенез

Возбудитель проникает в организм человека через слизистые оболочки зева и носоглотки, в редких случаях возможно заражение через слизистые оболочки половых органов или повреждённую кожу. В месте адгезии бактерий формируется местный воспалительно-некротический очаг. Развитие инфекционно-токсического синдрома обусловлен в первую очередь поступлением в кровоток эритрогенного токсина стрептококков (токсина Дика), а также действием пептидогликана клеточной стенки. Токсинемия приводит к генерализованному расширению мелких сосудов во всех органах, в том числе в кожных покровах и слизистых оболочках, и появлению характерной сыпи. Синтез и накопление антитоксических антител в динамике инфекционного процесса, связывание ими токсинов в последующем обусловливают уменьшение и ликвидацию проявлений токсикоза и постепенное исчезновение сыпи. Одновременно развиваются умеренные явления периваскулярной инфильтрации и отёка дермы. Эпидермис пропитывается экссудатом, его клетки подвергаются ороговению, что в дальнейшем приводит к шелушению кожи после угасания скарлатинозной сыпи. Сохранение прочной связи между ороговевшими клетками в толстых слоях эпидермиса на ладонях и подошвах объясняет крупнопластинчатый характер шелушения в этих местах.

Компоненты клеточной стенки стрептококка (групповой А-полисахарид, пептидогликан, белок М) и внеклеточные продукты (стрептолизины, гиалуронидаза, ДНК-аза и др.) обусловливают развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, аутоиммунных реакций, формирование и фиксацию иммунных комплексов, нарушения системы гемостаза. Во многих случаях их можно считать причиной развития гломерулонефрита, артериитов, эндокардитов и других осложнений иммунопатологического характера.

Из лимфатических образований слизистой оболочки ротоглотки возбудители по лимфатическим сосудам попадают в регионарные лимфатические узлы, где происходит их накопление, сопровождающееся развитием воспалительных реакций с очагами некроза и лейкоцитарной инфильтрации. Последующая бактериемия в некоторых случаях может привести к проникновению микроорганизмов в различные органы и системы, формированию гнойно-некротических процессов в них (гнойного лимфаденита, отита, поражений костной ткани височной области, твёрдой мозговой оболочки, височных синусов и т.д.).

Скарлатину следует отличать от кори, краснухи, псевдотуберкулёза, лекарственных дерматитов. В редких случаях развития фибринозных налётов и особенно при их выходе за пределы миндалин заболевание необходимо дифференцировать от дифтерии.

Скарлатину отличают яркая разлитая гиперемия ротоглотки («пылающий зев»), резко ограниченная в месте перехода слизистой оболочки на твёрдое нёбо, ярко-красный язык с малиновым оттенком и гипертрофированными сосочками («малиновый язык»), мелкоточечные элементы сыпи на общем гиперемированном фоне, сгущение сыпи в виде тёмно-красных полос на кожных складках в местах естественных сгибов, отчётливо выраженный белый дермографизм, бледный носогубной треугольник (симптом Филатова). При надавливании на кожу ладонью сыпь в этом месте временно исчезает («симптом ладони»), положительны эндотелиальные симптомы. После исчезновения экзантемы отмечают мелкочешуйчатое шелушение кожи (на ладонях и подошвах крупнопластинчатое).

Лабораторная диагностика

Диагноз скарлатины основывается на клинических (острое начало заболевания, лихорадка, интоксикация, острый катаральный или катарально-гнойный (при септической форме болезни - некротический), тонзиллит, обильная точечная сыпь, сгущающаяся в естественных складках кожи и лабораторных (нейтрофильный лейкоцитоз, повышенная СОЭ, обильный рост бетагемолитических стрептококков при посеве материала из очага инфекции на кровяной агар, нарастание титров антител к стрептококковым антигенам - М-протеину, А-полисахариду, стрептолизину-О и другим) данных.

Ситуационные задачи:

При микроскопическом исследовании отделяемого фурункула выделен S. aureus. К какой группе представителей нормальной микрофлоры кожи относится этот микроорганизм?

На каких из перечисленных сред выращивают стафилококки и каике среды целесообразно использовать при проведении бактериологического исследования?

а) МПБ или МПА;

б) молочно-солевой агар

в) желчный бульон

г) кровяной агар

д) сахарный агар или бульон

е) желчно-солевой агар

Какая среда является селективной для стафилококков? Что обеспечивает селективность этой среды?

Каковы особенности строения клеточной стенки стафилококков по сравнению со строением клеточной стенки грамотрицательных бактерий?

Какие ферменты патогенности продуцируют стафилококки? Какова их роль в патогенезе инфекции?

Какие клетки, кроме эритроцитов, может повреждать £ - токсин?

Чем объясняют кардиотоксический, дерматотоксический и нейротоксический эффекты α - токсина?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2.

ТЕМА: *ПАТОГЕННЫЕ ДИПЛОКОККИ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ СТРЕПТОКОККАМИ И НЕЙССЕРИЯМИ.*

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: «ПАТОГЕННЫЕ КОККИ»

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить морфологические и культуральные свойства патогенных грамположительных и грамотрицательных стрепто- и диплококков (нейссерий).

2. Освоить основные методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых патогенными диплококками.

СТУДЕНТ ДОЛЖЕН ЗНАТЬ*:*

1.Морфологические, культуральные и биохимические признаки диплококков;

2.Факторы патогенности, антигенную структуру;

3.Чувствительность к антибиотикам;

4.Основные методы исследования: бактериоскопический, бактериологический, серологический, биопробы, экспресс-диагностик;

5.Профилактика и лечение гонококковых инфекций.

Студент должен уметь:

1.Световая микроскопия препаратов из чистых культур менингококков, гонококков, пневмококков, окраску по Граму.

2.Проведение бактериологического исследования: спинномозговой жидкости на подозрение менингококковой инфекции; слизи из верхних дыхательных путей больного на пневмонию; отделяемое с уретры на гонорею (по схеме).

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ:

1. Морфологическая характеристика пневмококка (Streptococcus pneumoniae), менингококка, гонококка.
2. Сравнительная характеристика биохимической активности и потребности в питательных средах для диплококков разных видов.
3. Дифференциально-диагностические признаки (отличия) патогенных и непатогенных нейссерий.
4. Факторы вирулентности патогенных диплококков.
5. Источник инфекции, пути передачи, входные ворота при заболеваниях, вызванных диплококками.
6. Исследуемый материал и основные методы диагностики при патологических процессах, вызываемых диплококками

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Изучение морфологии пневмококков (Str. pneumoniae) в мазках- отпечатках из органов белой мыши, зараженной внутрибрюшинной мокротой больного пневмонией. Окраска по Граму (таблица).
2. Изучение биохимической активности пневмококков с целью дифференциации их от стрептококков. Посев на среды с инулином и желчью.
3. Микроскопический метод диагностики острой гонореи: микроскопия мазка гнойного отделяемого уретры больного острой гонореей. Окраска метиленовым синим.

4. Серологический метод диагностики хронической гонореи: оценить демонстрационную реакцию связывания комплемента (по Борде-Жангу), поставленную с целью обнаружения антител в сыворотке больного гонореей.
5. Оформление протокола исследования.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При заражении белой мыши мокротой больного пневмонией, мышь погибает от пневмококкового сепсиса. Из органов погибшей мыши готовят мазки-отпечатки. Красят по Граму. На розовом фоне, образованном клетками ткани, обнаруживаются грамположительные диплококки слегка вытянутой формы, напоминающие контуры пламени свечи или ланцета, окруженные бесцветной капсулой.
2. Характерным признаком пневмококков, отличающим их от большинства других видов стрептококков, является отношение к желчи и желчно-кислым солям. Желчь не только убивает, но и растворяет пневмококки. Напротив, в отличие от зеленящих (S.faecalis, S.sanguis) и гемолитических стрептококков (S.pyogenes), пневмококки разлагают инулин.
3. Диагноз острой гонореи ставят с помощью микроскопического метода исследования. Из исследуемого материала делают два мазка, один окрашивают по Граму, другой - метиленовым синим. При наличии в мазке гонококков видны грамотрицательные диплококки, расположенные внутри лейкоцитов (незавершенный фагоцитоз).
4. Так как при хронической гонорее гонококки находятся вне клеток, имеют атипичную форму в виде шаров или очень мелких образований, использовать бактериоскопический метод для постановки диагноза нельзя. Поэтому для диагностики хронической гонореи применяют: бактериологический, серологический методы исследования.

Серологический диагноз гонореи ставят с помощью РСК. Реакция ставится для обнаружения антител в сыворотке крови больного, с помощью известного антигена, который представляет собой взвесь убитых гонококков.

Схема постановки РСК

Компоненты реакции	1-я (опыт)	2-я (контроль АГ)	3-я (контроль АТ)
1. Исследуемая сыворотка (1:5)	0,5	-	0,5
2. Антиген в рабочей дозе	0,5	0,5	-
3. Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4. Физиологический раствор	-	0,5	0,5
на 45 минут в термостат			
5. Гемолитическая система	1,0	1,0	1,0
на 45 минут в термостат			
Учет результатов		гемолиз	гемолиз

Учет результата реакции начинают с контрольных пробирок. При наличии гемолиза в контрольных пробирках, о результатах реакции судят но опытной пробирке.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ К ТЕМЕ:

Менингококки (Neisseria meningitides)- грамотрицательные диплококки бобовидной формы, жгутиков и спор не имеют, в организме образуют капсулу.
Культуральные свойства. Очень требовательны к условиям культивирования. Растут на плотных и жидких питательных средах, содержащих 20-25% сыворотки (сывороточный агар, сывороточный бульон). На плотной среде образуют мелкие гладкие прозрачные колонии. Строгий температурный оптимум - 37° С (при других температурах менингококки погибают) необходимо создать как при культивировании, так и при транспортировке материала от больного в лабораторию.
Среди представителей рода Neisseria есть условно-патогенные виды, обитатели слизистых оболочек носоглотки – N. Sicca, N.mucosa и др. У людей с ослабленной резистентностью они могут вызывать заболевания клинически сходные с менингококковой инфекцией.
Антигенная структура. N meningitides имеет родовые антигены общие для всех видов. Внутри вида по капсульным полисахаридным антигенам различают серогруппы N meningitides-A,B,C,D,Y.Z и др.
Эпидемиологические вспышки чаще вызывают возбудители серогрупп A,B,C.
Факторы патогенности менингококков:
1.Пили – обеспечивают адгезию на клетках цилиндрического эпителия носоглотки.
2.Ig A- протеазы- расщепляют молекулы SIg A, снижая тем самым местную защиту слизистых оболочек носоглотки;
3.Капсула- защищает от фагоцитоза;
4.Ферменты патогенности: гиалуронидаза, нейроминидаза и др.
5.Эндотоксин (ЛПС клеточной стенки)- вызывает поражение кровеносных сосудов, что проявляется кровоизлияниями во внутренние органы и геморрагической сыпью на коже.
Источником инфекции являются больной человек, либо бактерионоситель. Чаще (в 70-80% случаев) болеют дети первых трех лет жизни.
Пути заражения – воздушно-капельный. Входные ворота инфекции – слизистая оболочка носоглотки. Менингококковая инфекция может протекать в нескольких клинических формах, которые разделяют на локализованные и генерализованные.

Основные клинические формы менингококковой инфекции и материал для микробиологического исследования

ФОРМЫ	ЗАБОЛЕВАНИЯ	МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ
Первично-локализованные	менингококковое носительство	мазок из носоглотки
	Острый назофарингит	
Гематогенно-генерализованные	Менингококциемия	Мазок из носоглотки, кровь
	Эпидемиологический цереброспинальный менингит, менингоэнцефалит	Мазок из носоглотки, кровь. ликвор

Микробиологическая диагностика менингококковых инфекций.

1. Бактериологический метод (основной) – выделение чистой культуры возбудителя на сывороточных средах и определение его антибиотикочувствительности.

2. Бактериологический метод – использует как обязательный ориентировачный. В мазках из нативного материала с окраской по Грамму выделяется внутриклеточное расположение бактерий и характерная картина незавершенного фагоцитоза менингококков.

Специфическая профилактика менингококковой инфекции проводятся только по эпидемиологическим показаниям менингококковой полисахаридной вакциной серогрупп А и С.

Гонококки- (N. Gonorrhoeae) – грамотрицательные диплококки бобовидной формы, образуют капсулу в организме, жгутиков и спор не имеют.

Культуральные свойства. Требовательны к питательным средам и температурный оптимум – 37 ˚С. Требуют свежеприготовленные влажные питательные среды с добавлением нативных белков крови, сыворотки или асцитной жидкости. Не вызывают гемолиза на средах, содержащих кровь, на средах содержащих с добавлением молока, желатина и картофеля не растут.

Для гонококков характерна выраженная антигенная изменчивость даже в пределах одного штамма.

Биохимические свойства: разлагают только глюкозу с образованием кислоты. Протеолитическая активность отсутствует, аммиака, сероводорода и индола не образуют.

Факторы патогенности гонококов:

1. Пили - обеспечивают адгезию к клеткам цилиндрического эпителия мочеполовых путей;
2. Капсула - в свежевыделенных культурах обладает антифагоцитарным действием;
3. Клеточная стенка содержит эндотоксин.
4. Поверхностный белок 1 классам обуславливает к бактерицидным факторам;
5. Поверхностный белок 2 класса образует отдельную белковую фракцию называемые протеинами мутности или Opa – протеинами (мутность). Их считают первыми факторами вирулентности гонококков, и они обуславливают прикрепление к эпителию.
6. R- плазмиды факторы множественной лекарственной устойчивости.

Для диагностики применяют:

Бактериологический метод (основной)- выделение чистой культуры возбудителя на сывороточных средах и определение его антибиотикочувствительности. Окраска по Граму и характерная картина незавершенного фагоцитоза гонококков.

Серологический метод используют при хронической гонорее, при отсутствии у больного выделений. Проводят РСК по Борде-Жангу по стандартной схеме, которая бывает положительной с 3-4 недель. В качестве антигена для РСК применяют гоновакцину или антиген из убитых гонококков.

Генетический метод- определение участков генома гонококка в материале от больного с помощью ПЦР.

Для **специфического лечения** хронических форм гонореи используют убитую гонококковую вакцину.

Пневмококки- Streptococcus pneumoniae- грамположительные диплококк, обычно ланцетовидные или располагающиеся в виде цепочек, имеющие полисахаридную капсулу, которая позволяет легко « типировать» их специфическими антисыворатками. Пневмококки неподвижны, спор не образуют; факультивные анаэробы. При культивирование на искусственных питательных средах теряют капсулу, переходят из S –в R-форму. Хорошо растут на кровяных и сывороточных средах. При росте на агаре с кровью барана образуют колонии с зоной α частичный гемолиз и позеленение среды, β полный гемолиз, γ-гемолиза визуально невидимый гемолиз.

Ферментативная активность глюкоза с образованием молочной кислоты.
Пневмококк не содержит группового антигена серологически неоднороден по АГ капсульных полисахаридов выделяют 84 серовара.
При пневмококковой инфекции с целью выделения чистой культуры возбудителя ставят биопробу – внутрибрюшинно заражают белых мышей материалом от больного.

Тест контроль

1. Объясните происхождение зон гемолиза. Как отличить пневмококки – β гемолитические –от α –гемолитических?
2. Перечислите возможные методы лабораторной диагностики при гонококковой инфекции.
3. Назовите основные факторы патогенности менингококка.
4. Кто является основным источником менингококковой инфекции?
5. Перечислите факторы патогенности для менингококка.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №3

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители кишечного эшерихиоза, кишечного иерсиниоза).***

Учебная цель: обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

Студент должен знать:

1.Морфологию представителей кишечной группы.
2. Бактериологический метод исследования кишечного эшерихиоза, кишечного иерсиниоза.
3. Окраску по Граму.
4. Специфическую профилактику кишечных заболеваний.

Студент должен уметь:

1. Приготовить и окрасить мазок по методу Грама.
2.Сделать посев исследуемого материала на дифференциально-диагностическую среду Эндо.

ПЛАН:

1.Таксономия и основные биологические свойства возбудителей кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
2.Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3.Принципы микробиологической диагностики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
4.Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).

1.Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
2.Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).

3.Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
4.Оформление протокола исследования

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В связи с трудностью дифференциации возбудителей кишечных заболеваний, вызывающих сходные клинические проявления, необходимо проведение комплексного микробиологического исследования, включающего одновременный поиск в исследуемом материале возбудителей эшерихиозов, шигеллезов, сальмонеллезов и холеры.

1. Исследуемый материал (испражнения больного) засевают на поверхность одной из дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителя кишечных заболеваний (среду Эндо) и 1 %щелочной агар для выделения возбудителя холеры.

Посев проводится штрихом на поверхности плотной питательной среды с целью механического разъединения микробов и получения изолированных колоний.

Чашки с 1 % щелочным агаром инкубируют при 37 град. 10-12 часов, чашки со средой Эндо - 18-24 часа.

2. После инкубации в термостате посевы на чашках со средами Эндо и 1 % щелочном агаре просматривают в проходящем и преломляющем свете. При отсутствии каких-либо признаков роста микробов на щелочном агаре, дается отрицательный ответ в отношении нахождения возбудителя холеры в исследуемом материале.

На среде Эндо через 18-24 ч. роста в термостате отмечается наличие колоний малиново-красных (ферментирующих лактозу, входящую в состав среды) и бесцветных (не ферментирующих лактозу).

3. Бесцветные ("подозрительные") колонии высевают на среду Ресселя. Состав среды Ресселя: МПА, 1 % лактозы, 0.1 % глюкозы и индикатор Андреде.

Посев производится следующим образом: снятую колонию осторожно, не задевая края пробирки, вносят в конденсационную жидкость, затем штрихами засевают всю скошенную поверхность среды и делают укол в глубину столбика. Пробирку с посевом на среде Ресселя ставят в термостат (37°С) на сутки (18-24 ч.).

Одновременно для изучения протеолитической активности культуры лактозонегативные колонии высевают в пробирку с МПБ с индикаторными бумажками, пропитанными ацетатом свинца и щавелевой кислотой для определения образования сероводорода и индола. Пробирку помещают в термостат (37°С, 18-24 ч.)

Эшерихиоз (кишечная колиинфекция) — острая кишечная инфекция, вызванная различными серологическими группами энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП), протекающая с симптомами общей интоксикации и синдромом поражения желудочно-кишечного тракта.

Этиология эшерихиоза.

Возбудители — энтеропатогенные кишечные палочки —принадлежат к виду Esheirichia, роду Escherichia, семейству Enterobacteroceae, представляют собой

грамотрицательные палочки, устойчивые во внешней среде. Могут месяцами сохраняться в почве, воде, испражнениях. Хорошо растут на обычных питательных средах. Быстро погибают при кипячении и воздействии дезинфицирующих средств. Эшерихии имеют сложную антигенную структуру: соматический О-антиген (термостабильный), поверхностный (капсульный) К-антиген и жгутиковый Н-антиген (термолабильный).
Кишечные инфекции, вызванные ЭПКП, встречаются чаще у детей раннего возраста
Классификация эшерихиозов:

- Энтеропатогенный (сальмонеллезоподобный).
- Энтеротоксический (холероподобный).
- Энтероинвазивный (дизентериеподобный).
- Энтерогеморрагический.

Диагноз эшерихиоза может быть установлен только при выделении возбудителя. Для бактериологического исследования отбирают фекалии, рвотные массы, промывные воды желудка, при генерализованных формах – кровь, СМЖ. Проводить исследование испражнений нужно сразу же, как только больной обратился за помощью к врачу, так как с течением времени вероятность выделения возбудителя быстро снижается. Сбор испражнений проводится после естественной дефекации или с помощью тампонов в пробирки с глицериновой смесью в количестве не более 1/3 объема консерванта, а рвотных масс и промывных вод желудка – в стеклянные баночки емкостью 200-250 мл. В лечебном учреждении должно быть проведено не менее трех диагностических исследований (первое – при поступлении больного до назначения ему антибиотиков, химиопрепаратов).

С целью выделения ЭПКП и ЭТКП следует отбирать пробы испражнений из последних порций, при исследовании ЭИКП – пробы с примесью слизи.

Отобранный материал в течение первых 2 ч доставляют в лабораторию, если это невозможно – помещают в холодильник и направляют в лабораторию не позднее 12 ч после забора.

При решении вопроса об этиологической роли возбудителя при возникновении кишечной инфекции необходимо учитывать следующие критерии:

• выделение эшерихий определенных сероваров, относящихся к ЭПКП, ЭИКП, ЭТКП, ЭГКП или ЭАКП, в монокультуре в сочетании с непатогенными сероварами эшерихий; если эшерихия патогенна, диагноз может быть установлен по одному положительному бакпосеву;

• массивное выделение ЭТКП (106/г фекалий и более) и значительное их преобладание над представителями другой условно-патогенной флоры.

Определенное диагностическое значение имеют серологические методы исследований, хотя они и менее информативны, неубедительны, так как возможны ложноположительные результаты из-за антигенного сходства с другими энтеробактериями. Используются для ретроспективной диагностики, особенно во время вспышки. В настоящее время из серологических методов исследования используют РНГА (диагностический титр 1:200 – 1:400 для взрослых, 1:40 – 1:80 для детей); реакцию иммунофлуоресценции; реакцию иммунной сорбции антител, меченных ферментами; реакцию нейтрализации; реакцию агглютинации с аутокультурой при нарастании титра антител в 4 и более раз в динамике заболевания.

Перспективным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Чтобы доказать патогенность эшерихии, нужно убедиться, что она имеет рецепторы, обеспечивающие адгезивность, может продуцировать термолабильный и термостабильный токсины, содержит плазмидную ДНК, кодирующую токсинообразование (Протасов С.А., 2003).

Если выделяются непатогенные эшерихии, надо подходить к диагностике как к таковой при других ОКИ, вызванных условно-патогенной флорой: трехкратный массивный рост микроорганизма, отсутствие высева патогенных возбудителей.

Диагноз «эшерихиоз», как отмечалось, неправомочен без бактериологического, а также серологического подтверждения. Исключение составляет клинико-эпидемиологическое

обоснование диагноза.

Инструментальные методы обследования (ректороманоскопия, колоноскопия) при эшерихиозах малоинформативны.

При оформлении заключительного диагноза указывается вид выделенного возбудителя, синдром поражения пищеварительного тракта, степень тяжести заболевания. При затяжном течении отмечается также характер течения болезни. Например: эшерихиоз (E. coli O111) в форме острого гастроэнтерита, средней степени тяжести.

Диагноз бактерионосительства может быть установлен только в тех случаях, когда клинические симптомы заболевания отсутствуют в настоящее время и не отмечались в предыдущие 1-1,5 мес. Бактерионосительство, как правило, кратковременное (1-2-кратное выделение возбудителя). В таких случаях при оформлении диагноза указывается только вид возбудителя. Например: бактерионоситель энтеропатогенных эшерихий О125.

Этиология. Возбудитель (Yersinia enterocolica) - грамотрицательная палочка, анаэроб, хоро¬шо растет на обычных питательных средах при низких температу¬рах. Известно 30 сероваров. Заболевание у человека чаще вызывают 3-й, 5-й, 8-й и 9-й серовары

Кишечный иерсиниоз.

Эпидемиология. Источником инфекции являются человек и животные, больные и носители. Особенно часто возбудитель обнаруживается у мышевидных грызунов, крупного рогатого скота, свиней, собак, кошек, в молочных продуктах, мороженом. Заражение человека происходит через рот при употреблении инфицированной пищи, воды или контактным путем.

Заболевание встречается в течение всего года.

Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, вследствие чего развивается энтероколит или гастроэнтероколит. В тяжелых случаях в области терминального отдела тонкой кишки возникает язвенный процесс с вовлечением мезентериальных лимфатических узлов. При проникновении возбудителя в кровь отмечаются бактериемия и генерализация процесса с развитием воспаления в органах.

Клиника. Инкубационный период — 2-3 дня. Клиническая симптоматика у больных практически не отличается от таковой при псевдотуберкулезе. Однако необходимо иметь в виду, что при кишечном иерсиниозе заболевание часто начинается с кишечных расстройств (обильный водянистый стул с примесью крови), а поражение внутренних органов возникает как бы вторично на высоте клинических проявлений и чаще в тяжелых случаях.

В диагностике кишечного иерсиниоза ведущую роль играют бак¬териологический и серологический методы исследования. Yersinia enterocolica можно выделить из кала, крови, мочи, гноя, слизи из зева, лимфатического узла. Из методов серологической диагностики используют реакцию агглютинации и реакцию непрямой гемагглютинации. Диагностический титр 1:100 и выше. Более достоверно нарастание титра специфических антител в динамике заболевания.

Профилактика кишечного иерсиниоза проводится так же, как при других кишечных инфекциях. Специфическая профилактика не разработана.

СИТАУЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1.У 2-х летнего ребенка высокая температура, понос, резко выраженная интоксикация. Как надо провести бактериологическое исследование для постановки диагноза?

2.При проведении бактериологического исследования испражнений больного с клиническим диагнозом - колиэнтерит, на чашках со средой Эндо выросли колонии красного цвета типичные для кишечной палочки. Как решить вопрос патогенные это кишечные палочки или нет?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №4

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ***

(возбудители брюшного тифа, сальмонеллезов).

Учебная цель: обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

Студент должен знать:

1.Морфологию представителей кишечной группы.
2.Бактериологический метод диагностики сальмонеллеза (пищевой токсико-инфекции).
3.Бактериологический метод диагностики брюшного тифа.
4.Бактериологическое исследование гемокультуры больного с клиническим диагнозом «брюшной тиф» и идентификацию выделенной культуры по антигенным и биохимическим признакам. Определение фаготипа и чувствительности возбудителя к антибиотикам.
5.Интерпретацию результатов серологических реакций (реакции Видаля и др.).

Студент должен уметь:

1.Приготовить и окрасить мазок по методу Грама.
2.Посеять исследуемый материал на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар.
3.Провести учет результатов реакции Видаля.
4.Оформить протокол исследования.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей брюшного тифа, сальмонеллезов.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики брюшного тифа, сальмонеллезов.
   1.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики брюшного тифа, сальмонеллезов.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
2.Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
3.Учет результатов реакции Видаля.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Брюшной тиф — острая циклически протекающая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями Salmonella typhi (Salmonella enterica серотип typhi), с алиментарным путем передачи (фекально-оральный), характеризующаяся лихорадкой, явлениями общей интоксикации с развитием тифозного статуса, розеолезными высыпаниями на коже, гепато- и спленомегалией и специфическим поражением лимфатической системы нижнего отдела тонкой кишки.

Возбудитель — Salmonella typhi из семейства Enterobacteriaceae рода Salmonella, подвижная грамотрицательная палочка с закругленными концами, хорошо окрашиваемая всеми анилиновыми красителями. Вырабатывает эндотоксин, патогенный только для человека. Не образует споры.

Бактерии брюшного тифа довольно устойчивы во внешней среде: в пресной воде водоемов они сохраняются до месяца, на овощах и фруктах — до 10 дней, а в молочных продуктах могут размножаться и накапливаться.

Под воздействием 3 % раствора хлорамина, 5 % раствора карболовой кислоты, сулемы (1:1000), 96 % этилового спирта они гибнут через несколько минут.

Сальмонеллы брюшного тифа имеют сложную антигенную структуру. Различные серовары содержат характерный набор антигенных факторов, которые складываются из сочетания О- и Н-антигенов.

Лабораторная диагностика прежде всего заключается в бактериологическом исследовании крови, кала, мочи, желчи. Метод гемокультуры можно использовать с первых дней заболевания и до конца лихорадочного периода, желательно до начала лечения. Для этого 5-10 мл крови из локтевой вены у постели больного засевают на 20 % желчный бульон или среду Рапопорта, мясопептонный бульон с 1 % глюкозы, либо даже в стерильную дистиллированную воду. Объем среды — 50-100 мл. Соотношение материала и среды должно быть 1:10. Кал, мочу, дуоденальное содержимое исследуют со 2-й недели от начала заболевания, засевая на среды Плоскирева, Левина, Мюллера и др. Предварительный результат этих исследований получают через 2 дня, окончательный — через 4 дня.

Для выявления брюшной тифозной палочки в фекалиях, моче, дуоденальном содержимом используют РИФ с меченными сыворотками к О- и Vi-антигенам. Предварительный ответ может быть получен в течение 1 ч, окончательный — через 5-20 ч.

Из серологических методов используют РА (Видаля) и РПГА с цистеином. Реакцию Видаля ставят с Н- и О-антигенами с 7-9-го дня заболевания повторяют на 3-4-й неделе для определения нарастания титра (от 1:200 до 1:400-1:800-1:1600). Последнее имеет значение для исключения положительного результата реакции, который может быть обусловлен предшествовавшей иммунизации против брюшного тифа. Ответ может быть получен через 18-20 ч. При постановке РПГА учет результатов проводят после инкубирования пластин при 37° С в течение 1,5-2 ч и повторно — через 24 ч нахождения при комнатной температуре. Положительный считается реакция в титре 1:40 и выше.

Сальмонеллёзы — острые кишечные инфекции животных и человека, вызываемые сальмонеллами. Острое инфекционное зооантропонозное заболевание, вызываемое сальмонеллами и характеризующееся, в общем случае, развитием интоксикации и поражением желудочно-кишечного тракта.

Сальмонеллёзы у человека рассматривают как определённое заболевание (нозологическую форму), отличая его от брюшного тифа и паратифов. Основной источник инфекции — пищевые продукты, реже- больное животное,в отдельных случаях источником заражения может быть человек (больной или бактерионоситель). Заражение происходит через инфицированные пищевые продукты, как правило, животного происхождения (мясо и мясные продукты, молоко, яйца, особенно утиные и гусиные), при вынужденном, неправильном убое животных, нарушении правил хранения и приготовления продуктов (соприкосновение готовой и сырой продукции, недостаточная термическая обработка продуктов перед употреблением и т. д.). Сальмонеллёзы развиваются в тех случаях, когда в организм попадают накопившиеся в продуктах живые сальмонеллы.

На территории РФ наиболее часто встречаются следующие серовары вида Salmonella enterica подвид enterica: Salmonella Enteritidis, Salmonella Typhimurium , Salmonella Infantis.

Клинические проявления сальмонеллёзов разнообразны — от бессимптомного носительства возбудителя инфекции до тяжёлых септических форм. Инкубационный период колеблется от 2—6 часов до 2—3 суток.

Различают несколько клинических форм сальмонеллёза:

1.Желудочно-кишечная форма

2.Тифоподобная форма

3.Септическая форма

В 15—17 % случаев сальмонеллёзов в периоде реконвалесценции наблюдается кратковременное бактерионосительство. Возможны «транзиторное» носительство (однократное выделение сальмонелл без клинических проявлений) и хроническое бактерионосительство.

Диагностика сальмонеллеза осуществляется комплексно с учетом эпидемиологических данных, симптоматики и результатов лабораторных исследований, направленных на изоляцию и типирование возбудителя. Основным способом типирования сальмонелл является реакция агглютинации. Для ее проведения до недавнего времени пользовались гипериммунными сыворотками, но в настоящее время им на смену пришли моноклональные антитела к сальмонеллам.

Профилактика.

Ветеринарно-санитарный надзор за убоем скота и обработкой туш; выполнение санитарных правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов; обследование поступающих на работу на предприятия общественного питания и торговли, детские учреждения.

СИТАУЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1.Больной из эпид. очага брюшного тифа. Жалобы: высокая температура, головные боли, кашель, боли в животе. Каким лабораторным методом надо воспользоваться для уточнения диагноза? На какой день будет дан ответ? Положительные или отрицательный? Давность заболевания 2 дня.

2.От больного получена гемокультура, которая по морфологическим, культурным, биохимическим свойствам соответствует возбудителю брюшного тифа. Реакция агглютинации с диагностической сывороткой дает отрицательную реакцию. Ваше решение?

3.Как поставить микробиологический диагноз брюшного тифа у больного с подозрением на это заболевание? Давность заболевания 5 дней.

4.Каковы особенности бактерионосительства при брюшном тифе? Какие серологические реакции используются для подтверждения хронического бактерионосительства

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №5

ТЕМА: *БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители шигеллеза, холеры).*

Цель занятия:

1.Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

Студент должен знать:

1.Биологические свойства и лабораторную диагностику холеры.
2.Биологические свойства и лабораторную диагностику дизентерии.
3.Экспресс диагностику холеры.
4. Специфическую профилактику холеры и дизентерии.

Студент должен уметь:

1.Провести учет и интерпритацию результата экспресс-диагностики холеры.
2.Провести бактериологическую диагностику дизентерии: сделать посев на дифференциально-диагностическую среду Плоскирева.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей шигеллеза, холеры.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики шигеллеза, холеры.

4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики шигеллеза, холеры.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
2. Учет результатов посева на дифференциально-диагностической среде Плоскирева (макро- и микроскопическое исследования).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Шигеллёзы — сборная группа инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями рода шигелл (Shigella).

Дизентерия — шигеллёз, протекающий с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки.

Этиология.

Возбудители — грамотрицательные неподвижные (родовой признак) бактерии рода Shigella семейства Enterobacteriaceae.

Эпидемиология.

Источник инфекции — больные лица и бактерионосители. Шигеллёз регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости в тёплый сезон.

Механизмы передачи — фекально-оральный и контактно-бытовой, через воду, пищевые продукты. Определённую роль в распространении инфекции играют насекомые-переносчики: мухи, тараканы.

Инфицирующая доза составляет 200—300 живых клеток, что обычно достаточно для развития заболевания.

Инкубационный период длится 1—7 дней.

Патогенез шигеллеза. Входными воротами инфекции является кишечник, где происходит размножение шигелл. Инвазия шигелл происходит преимущественно в энтероциты дистального отдела толстой кишки, что приводит к разрушению энтероцитов, развитию местных воспалительных изменений в виде отека, гиперемии, эрозии, поверхностных изъязвлений. Эндотоксины шигелл, попадая в кровь, вызывают общую интоксикацию, вплоть до развития эндотоксинового шока, нарушение всех видов обмена веществ – белкового, жирового, водно-солевого, с развитием эксикоза различной степени.

Лечение

Этиотропное (воздействие на возбудителя) лечение производится препаратами:
препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин),
хинолины (хлорхинальдон),
фторхинолоны (ципрофлоксацин).

Патогенетическое лечение состоит в дезинтоксикационной терапии изотоническими солевыми растворами (раствор Рингера), энтеросорбентами (энтеросорб, Активированный уголь, Полифепан, Смекта), а так же витаминотерапии. Проводят коррекцию дисбактериоза.

Лабораторная диагностика шигеллеза.

1. Общий анализ крови. Выявляют лейкоцитоз, нейтрофильный сдвиг влево, повышенную СОЭ; степень изменений обычно соответствует тяжести состояния.
2. Бактериологический метод. Материалом для исследования служат испражнения больного и рвотные массы. Используют дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Эндо или Левина).
3. Серологический метод. Исследуют парные сыворотки в РПГА с эритроцитарным диагностикумом для обнаружения антител и нарастания их титра.

Минимальным условно-диагностическим титром антител к диагностикуму шигелл Флекснера для детей до 3-х лет считают реакцию в разведении 1:100, для остальных диагностикумов 1:200 или 4-х кратное нарастание титра антител в динамике болезни.

4. Применяют также иммунофлюоресцентный метод, позволяющий обнаружить антиген в

фекалиях, моче, крови; реакцию нарастания титра фага (РНФ), реакцию нейтрализации антител (РНА), иммуноферментный метод (ИФА) и иммунорадиометрический анализ (ИРА).
5. Копроцитологическое исследование проводят с первых дней болезни. При микроскопическом исследовании учитывают повышенное количество лейкоцитов, эритроцитов, клеток кишечного эпителия, наличие крахмала, жира и продуктов его расщепления, цисты простейших, яйца глистов.

Холера (лат. cholera (греч. cholera, от cholē желчь + rheō течь, истекать)) — острая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями вида Vibrio cholerae. Характеризуется фекально-оральным механизмом заражения, поражением тонкого кишечника, водянистой диареей, рвотой, быстрейшей потерей организмом жидкости и электролитов с развитием различной степени обезвоживания вплоть до гиповолемического шока и смерти.

Этиология. Известно более 150 серогрупп Vibrio cholerae; их разделяют на агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (V. cholerae O1) и на не агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (V. cholerae non O1) .

«Классическая» холера вызывается холерным вибрионом серогруппы O1 (Vibrio cholerae O1). Различают два биовара (биотипа) этой серогруппы: классический (Vibrio cholerae biovar cholerae) и Эль-Тор (Vibrio cholerae biovar eltor).

По морфологическим, культуральным и серологическим характеристикам они сходны: короткие изогнутые подвижные палочки, имеющие жгутик, грамотрицательные аэробы, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, спор и капсул не образуют, растут на щелочных средах (pH 7,6-9,2) при температуре 10-40 °C. Холерные вибрионы Эль-Тор в отличие от классических способны гемолизировать эритроциты барана (не всегда).

Каждый из этих биотипов по О-антигену (соматическому) подразделяется на серотипы. Серотип Инаба (Inaba) содержит фракцию С, серотип Огава (Ogawa) — фракцию В и серотип Гикошима (правильнее Гикосима) (Hikojima) — фракции А, В и С. Н-антиген холерных вибрионов (жгутиковый) — общий для всех серотипов. Холерные вибрионы образуют холерный токсин — белковый энтеротоксин.

Vibrio cholerae non-01 вызывают различной степени тяжести холероподобную диарею, которая также может закончиться летальным исходом

Как пример можно привести большую эпидемию, вызванную Vibrio cholerae серогруппы O139 Bengal. Она началась в октябре 1992 в порту Мадрас Южной Индии и, быстро распространяясь по побережью Бенгалии, достигла Бангладеш в декабре 1992, где только за первые 3 месяца 1993 вызвала более чем 100000 случаев заболевания.

Лабораторная диагностика. Цель диагностики: индикация Vibrio cholerae в испражнениях и/или рвотных массах, воде, определение агглютининов и вибриоцидных антител в парных сыворотках крови больных

Методика диагностики. Посев бактериологического материала (испражнения, рвотные массы, вода) на тиосульфат-цитрат-жёлчносолевой-сахарозный агар (англ. TCBS), а также на 1 % щелочную пептонную воду; последующий пересев на вторую пептонную воду и высев на чашки со щелочным агаром.

Выделение чистой культуры, идентификация.

Исследование биохимических свойств выделенной культуры — способность разлагать те или иные углеводы, т. н. «ряд сахаров» — сахарозу, арабинозу, маннит.

Реакция агглютинации со специфическими сыворотками

Профилактика. Предупреждение заноса инфекции из эндемических очагов

Соблюдение санитарно-гигиенических мер: обеззараживание воды, мытьё рук, термическая обработка пищи, обеззараживание мест общего пользования и т. д.

Раннее выявление, изоляция и лечение больных и вибрионосителей

Специфическая профилактика холерной вакциной и холероген-анатоксином. Холерная вакцина имеет короткий (3-6 мес.) период действия.

В настоящее время имеются следующие пероральные противохолерные вакцины:

Вакцина WC/rBS — состоит из убитых целых клеток V. Cholerae O1 с очищенной рекомбинантной В-субъединицей холерного анатоксина (WC/rBS) — предоставляет 85-90-процентную защиту во всех возрастных группах в течение шести месяцев после приёма двух доз с недельным перерывом.
Модифицированная вакцина WC/rBS — не содержит рекомбинантной В-субъединицы. Необходимо принимать две дозы этой вакцины с недельным перерывом. Вакцина лицензирована только во Вьетнаме.
Вакцина CVD 103-HgR — состоит из ослабленных живых оральных генетически модифицированных штаммов V. Cholerae O1 (CVD 103-HgR). Однократная доза вакцины предоставляет защиту от V. Cholerae на высоком уровне (95 %). Через три месяца после приёма вакцины защита от V. Cholerae El Tor была на уровне 65 %.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Из испражнений больного выделен гр-, подвижный вибрион, агглютинирующеися о- агглютинирующей холерной сывороткой, нечувствительный к действию специфического холерного фага, нечувствительный к полимиксину. Ваш ориентировочный диагноз? Что нужно еще сделать для подтверждения диагноза?

2. У больного с профузным поносом и рвотой и из испражнений и рвотных масс выделено гр- подвижная палочка, не теряющая подвижности в присутствии о-агглютинирующей холерной сыворотки, в посеве по Полеву-Ермольевой через 3 часа в первой пробирке - диффузное помутнение, во второй - диффузное помутнение, в третьей - при добавлении раствора Люголя посинение. Ваше предложение? Этапы дальнейшего лабораторного исследования?

3. Из воды открытого водоема выделен микроб: гр- палочка очень подвижная дающая на щелочном агаре очень нежные прозрачные, голубоватые в проходящем свете колонии, расщепляющая глюкозу, мальтозу, манит, не расщепляющая лактозу, дульцит, разжижающая желатину воронкой. Ваш ориентировочный диагноз?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6

ТЕМА: *ПАТОГЕННЫЕ АНАЭРОБЫ. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ АНАЭРОБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.*

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить современные методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых анаэробами.

2.Изучить препараты для специфической профилактики и терапии анаэробных заболеваний.

Студент должен знать:

1.Особенности морфологии, тинкториальные и культуральные свойства, биохимическую активность.

2.Факторы патогенности: токсины и значение их в патогенезе анаэробных инфекций.

3.Распространение, источник инфекции, пути передачи заболевания вызываемые у человека.

1. Микробиологическая диагностика: бактериоскопический, бактериологический метод, биопробы.

5.Специфическая профилактика и лечение.

Студент должен уметь:

1.Проводить бактериологические исследования чистой культуры (по схеме).

1. Приготовить мазок и окрасить по Граму.
2. Микроскопия мазка.
3. Провести учет результатов.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Современные представления об этиологии анаэробной инфекции. Клостридиальная и неклостридиальная анаэробная инфекция.
2. Морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителей анаэробной инфекции: клостридий (газовой гангрены, столбняка, ботулизма), пептострептококков, бактероидов, фузобактерий, анаэробных вибрионов, кампилобактерии и спирилл.
3. Патогенетические аспекты анаэробной инфекции: первичная экзогенная и вторичная, эндогенная. Механизмы возникновения. Оппортунистические анаэробные и смешанные инфекции.
4. Методы микробиологической диагностики анаэробной инфекции.
5. Принципы специфической профилактики анаэробной инфекции. Препараты для активной и пассивной иммунизации.
6. Принципы специфической терапии анаэробной инфекции. Этиотропная и патогенетическая терапия: антибактериальная, гипербарическая оксигенация и т.п.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены: изучение мазка-отпечатка из гнойной раны, окраска по Граму.
2. Бактериологический метод диагностики анаэробной инфекции:

1-й этап - изучение на 5% кровяном агаре изолированных колоний бактероидов и пептострептококков, выделенных из гнойного экссудата.

Далее- получение чистой культуры анаэробных бактерий в полужидкой среде АС. Демонстрация селективных сред для культивирования анаэробов: Китта-Тароцци, «высокий» столбик сахарного агара.

2-й этап - идентификация чистой культуры анаэробных бактерий по биохимическим свойствам с использованием тест-системы АР1-Ап (принцип «пестрого ряда»).

3. Определение чувствительности анаэробных бактерий к антибиотикам (микрометод). Демонстрация результатов посева чистой культуры в микрокассету с антибиотиками.
4. Описание препаратов для специфической профилактики клостридиальной анаэробной инфекции: тетраанотоксин газовой гангрены, пентаанотоксин (+ столбнячный анатоксин), противостолбнячный компонент препаратов АДС и вакцин АКДС, ТАВte.
5. Описание препаратов для специфической терапии клостридиальной анаэробной инфекции: поливалентная противогангренозная сыворотка, антитоксическая противостолбнячная сыворотка, антитоксические моноклонапьные и поливалентные противоботулинические сыворотки.
6. Оформление протокола исследования.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены. В мазке- отпечатке из гнойной раны (окраска по Граму) обнаруживаются палочковидные клетки фиолетового цвета.
2. Бактериологический метод диагностики анаэробной инфекции.

1-й этап. Первый день. На 5% кровяном агаре в чашке Петри (после культивирования в анаэростате: 80% N_2, 10% H_2, 10% CO_2) определяются несколько видов изолированных колоний, в том числе с различными видами гемолиза (α, β) и пигмента (например, черный пигменту бактероидов группы «melaninogenicus»). Второй день. В пробирке с чистой культурой пептострептококков в полужидкой среде АС наблюдаются мелкие гранулы белого

цвета в нижней части пробирки со средой. При контроле чистоты выделенной культуры (окраска генциан-виолетом) определяются цепочки из удлиненных кокков синего цвета.

2-й этап. В тест-системе API-An для идентификации чистых культур по биохимическим свойствам определяется ферментация глюкозы (изменение окраски индикатора в желтый цвет) при отсутствии других проявлений гликолитической, а так же протеолитической активности (отрицательные пробы на индол и сероводород).

3-й этап. При определении чувствительности анаэробных бактерий к антибиотикам в микрокассете (после культивирования в анаэростате) отмечаются положительный и отрицательный варианты результатов.

4- этап. При изучении ампул с препаратами для специфической профилактики и терапии анаэробных инфекций, в протоколе отмечаются цели (профилактика, лечение), характер иммунизации (активная или пассивная, антитоксическая или антибактериальная), показания к применению и особенности использования каждого препарата.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение
1.	Мазок-отпечаток из гнойной раны. Окраска по Граму.		

Информационный материал

Столбняк тяжелая раневая инфекция.

Морфология грамположительные палочки с закругленными концами. Располагаются одиночно или цепочкой. Споры расположены терминально.

Культуральные свойства облигатный анаэроб. На МПА и желатине в строго анаэробных условиях возбудитель растет медленно и образует тонкие прозрачные колонии. При посеве столбиком в полужидкий агар через 24-48 часов формирует колонии в виде «чечевичек» R –формы или «пушинок» S формы.

Факторы патогенности – экзотоксины тетаноспазмин и тетанолизин.

Антигенная структура –О и Н антигены.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к столбняку отсутствует.

Диагностика: бактериоскопический, бактериологический и биологический.

Лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина анатоксином. Применяют противостолбнячную лошадиную сыворотку в дозе 50-100 тыс. МЕ.

Профилактика- хирургическая обработка раны. Создания искусственного активного иммунитета в плановом порядке вакцинация АКДС, АДСм. Первичную вакцинацию проводят детям в 3- месячном возрасте.

Клостридия ботулизма

Ботулизм – острая пищевая токсикоинфекция, протекающая преимущественным поражением центральной и вегетативной системы.

Морфология- палочки с закругленными концами, подвижны, перетрихии. Споры расположены субтерминально.

Культуральные свойства – строгие анаэробы. Хорошо растут на средах Китта- Тароцци, бульон из мясаи рыбы. Вызывает помутнение среды и газообразование.

Все типы клостридии ботулизма образуют сероводород.

Антигенная структура имеют группоспецифические (Н) жгутиковые и типоспецифические соматические (О) антигены.

Факторы патогенности – ботулотоксин белок, проявляющее нейротоксическое действие. Ботулотоксин является самым сильным ядом, известным человеку.

Иммунитет. Естественный иммунитет человека отсутствует.

Лечение. Для лечения по Безредко больному в/в вводят одну международную лечебную дозу (по 10000 МЕ сывороток типов А и Е и 5000 МЕ типа В).

Профилактика. Для экстренной профилактики используется поливалентная (типов А,В,Е) лошадиная сыворотка.

Клостридия газовой гангрены.

Анаэробная раневая инфекция (газовая гангрена, анаэробный миозит)- тяжелая раневая инфекция человека и животных, вызываемая бациллами рода Clostribium perfinqens.

Морфология. Вегетативные клетки - крупные, грамположительные, неподвижные. Классические формы представленными под прямым углом концами. В организме образуют капсулы, они наиболее выражены у вирулентных штаммов. Резистентных к фагоцитозу.

Культуральные свойства. На плотных средах С Perfiinqens типа А образует S и R – колонии круглые. S- колонии куполообраные, с гладкими ровными краями. R – колонии неправильной формы краями; в глубине агара напоминают комочки ваты.

Рост на жидких и полужидких питательных средах, особенно содержащих глюкозу, происходит очень бурно с образованием H_2 и CO_2 и обычно заканчивается через 8-12 часов Помутнение среды и активное газообразование можно наблюдать через 4-8 часов культивирования.

Биохимическая активность- расщепляет с образованием кислоты и газа глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, маннозу, крахмал.

Протеолитическая активность слабая; разжижает желатину, интенсивно створаживают молоко.

Антигенная структура – все серовары образуют α- токсин (лецитиназу). Возбудитель образует как минимум 12 идентификационных токсинов и ферментов, играющих роль в патогенезе газовой гангрены.

Clostribium perfinqens широко распространен в окружающей среде; его выделяют из воды, почвы, сточных вод. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде, способны вегетировать в почве. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

Ситуационные задачи

1.Ответьте на тестовый вопрос: выберите среды, на которых культивируют клостридии:

а) железо-сульфитное молоко

б) высокий столбик сахарного МПА

в) среда Эндо,Левина

г) среда Вильсона-Блер

д) желчный бульон

е) кровяной агар

2.Какие методы лабораторной диагностики Вы можете отметить для газовой гангрены и столбняка, исходя из знания патогенеза, клинической картины и условий заражения?

3. Важно знать, что в патогенезе заболеваний, вызываемые газовой гангреной и столбняком, основная роль принадлежит продуцируемым ими токсинам и ферментам патогенности.

4.Назовите их, дайте краткие характеристики их свойств.

5. Принимая во внимание этот факт, предложите препараты для специфической профилактики и лечения анаэробных инфекций, вызванных газовой гангреной и столбняком

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №7

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ (туляремии бруцеллеза)

Учебная цель:

1.Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики бруцеллеза,туляремии.

Студент должен знать:

1.Биологические свойства и лабораторную диагностику бруцеллеза, туляремии.

2. Специфическую профилактику бруцеллеза, туляремии.

Студент должен уметь:

1.Провести учет и интерпритацию результатов реакции Хеддельсона и Райта при бруцеллезе.

2.Провести учет и интерпритацию результатов реакции агглютинации при туляремии.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей бруцеллеза,туляремии.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики бруцеллеза, туляремии
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики бруцеллеза,. туляремии
5. Сача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Постановка и учет результатов реакции Хеддельсона и Райта при бруцеллезе.
2. Постановка и учет результатов реакции агглютинации при туляремии

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ БРУЦЕЛЛЕЗА

В сыворотке больных бруцеллезом накапливаются агглютинирующие (вначале Ig M, затем Ig G), неполные блокирующие (Ig A , IgG) и опсонические (Ig G) антитела. Для их выявления с диагностической целью используют реакцию Райта и Хедельсона. Реакция агглютинации- один из основных диагностических методов при бруцеллезе.

1. Постановка реакции Райта проводится с целью определения содержания в сыворотке крови больного специфичных антител. Компоненты реакции:

а) исследуемая сыворотка в разведении 1:25;

б) антиген — взвесь убитых бруцелл (диагностикум Райта).

СХЕМА РЕАКЦИИ РАЙТА.

№ пробирок Компоненты	1	2	3	4	5	6	7
1. Физиологический раствор	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2. Сыворотка больного (1:25)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
3. Разведения сыворотки	1:50	1:100	1: 200	1:400	1:800	-	-
4. Диагностикум Райта	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-

Учет результатов проводится через 18-20 часов, поэтому на занятии предлагается демонстрация реакции Райта. Студенты проводят учет результатов и делают вывод.

2. Постановка реакции Хеддельсона.

Реакция ставится при массовом обследовании на бруцеллез с использованием стеклянных пластин. Компоненты реакции:

а) неразведенная сыворотка крови больного;

б) антиген - взвесь убитых и окрашенных кристалл-виолетом бруцелл.

СХЕМА РЕАКЦИИ ХЕДДЕЛЬСОНА

№ квадратов Компоненты	1	2	3	4	Контроль	
					сыворотка	антиген
1. Физиологический раствор	-	-			0,03	0,03
2. Сыворотка больного	0,08	0,04	0,02	0,01	0,02	-
3. Диагностикум Райта	0,03	0,03	0,03	0,03	-	0,03

Студенты проводят реакцию самостоятельно и делает заключение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты Исследования	Графическое изображение

Бруцеллёз (лат. brucellosis) — зоонозная инфекция, передающаяся от больных животных человеку, характеризующаяся множественным поражением органов и систем

организма человека.

Возбудитель заболевания — группа микроорганизмов рода бруцелл. Патогенными для человека являются три: возбудитель бруцеллёза мелкого рогатого скота (Brucella melitensis), возбудитель бруцеллёза крупного рогатого скота (Brucella abortus), возбудитель бруцеллёза свиней (Brucella suis).

Возбудители бруцеллёза — бактерии рода бруцелла — хорошо переносят низкие температуры и замораживание, в воде сохраняются до 5 мес, в почве — 3 мес. и более, в коровьем молоке — до 45 дней, в брынзе — до 60 дней, в масле, сливках, простокваше и свежих сырах — в течение всего периода их пищевой ценности; в замороженном мясе — св. 5 мес, в засоленных шкурах — 2 мес, в шерсти — до 3—4 мес. При кипячении и пастеризации молока бруцеллы погибают. Дезинфицирующие средства убивают бактерии в течение нескольких минут.

Наиболее часто бруцеллёзом болеют домашние животные (козы, овцы, коровы, свиньи), при этом у животных наблюдаются аборты и рождение мертвого плода. Бруцеллы выделяются в окружающую среду с молоком, мочой больных животных и отделяемым матки (во время аборта). Возбудители бруцеллёза также содержатся в мясе больных животных.

В организм человека бруцеллы проникают через слизистые оболочки пищеварительного и дыхательного тракта, а также через поврежденную кожу (ссадины, царапины). Человек заражается бруцеллёзом при употреблении сырого молока от больных животных и приготовленных из него молочных продуктов (сыр, масло, творог, брынза), а также недостаточно проваренного и прожаренного мяса. Заражение может произойти и на производстве, связанном с обработкой кожи и шерсти, а также при уходе за больными животными и через предметы, зараженные их выделениями. Наиболее часто болеют доярки, телятницы, пастухи, чабаны, вет. работники, зоотехники.

Инкубационный период (скрытый) продолжается от одной недели до нескольких месяцев, чаще 1—3 нед. бруцеллёз характеризуется многообразием клинических симптомов; течение его может быть различной степени тяжести. Заболевание начинается постепенно: появляются недомогание, бессонница, иногда раздражительность, головная боль, боли в мышцах и суставах, снижается аппетит, температура повышается до 37,1—37,3°. Чаще бруцеллёз начинается остро: температура повышается до 39— 40°, появляются озноб, слабость, обильное потоотделение, резкие боли в мышцах, тугоподвижность и боли в суставах. Характерно поражение кровеносных сосудов, нервной системы и костносуставного аппарата, иногда могут быть психические расстройства. Болезнь длится в среднем 3 мес, но может затягиваться до 1—2 лет и более. Стойкие остаточные явления после перенесенного бруцеллёза могут привести к инвалидности. У беременных женщин при бруцеллёзе возможен самопроизвольный выкидыш.

Лабораторное подтверждение бруцеллеза существенно ограничено тем, что бруцеллы относятся к опасным возбудителям, выделение которых может проводиться только в специальных лабораториях, оборудованных в соответствии с требованиями профилактики. При серологических и аллергологических исследованиях нужно учитывать, что у привитых против бруцеллеза (прививаются группы риска, профессионально контактирующие с животными) могут быть и довольно длительное время положительные результаты как серологических реакций, так и особенно аллергических проб.

Из серологических реакций наиболее информативной является реакция агглютинации (реакция Райта). Агглютинация на стекле (реакция Хеддльсона) для диагностики не используется, она предложена для выявления лиц, подлежащих обследованию на бруцеллез, при массовых обследованиях по эпидемиологическим показаниям. Реакция Хеддльсона часто дает ложноположительные результаты. В какой-то степени это связано с перекрестными реакциями с рядом антигенов (иерсинии, возбудитель туляремии, противохолерная вакцинация и др.). Следует учитывать, что Br. melitensis и Br. abortus имеют перекрестные реакции между собой, но не с Br. canis, так что для выявления антител к этой бруцелле необходим специальный диагностикум, который пока еще не выпускается.

Возможно, это одна из причин редкого выявления данной разновидности бруцеллеза.
При остросептической форме бруцеллеза антитела начинают выявляться на 2-й неделе болезни и в дальнейшем титр их нарастает. Аллергическая проба становится положительной в конце 1-й и на 2-й неделе. При хронических формах нарастания титра антител часто выявить не удается. Следует учитывать, что постановка аллергической пробы (проба Бюрне) может приводить к появлению антител или к нарастанию титра. Другие серологические реакции (РСК, РПГА, ОФР) менее информативны по сравнению с реакцией Райта и не имеют существенного значения. Отрицательные результаты пробы Бюрне позволяют исключить бруцеллез (за исключением ВИЧ-инфицированных, у которых исчезают все реакции ГЗТ).

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1.Какие методы лабораторной диагностики Вы можете отметить для бруцеллеза, исходя из знания патогенеза, клинической картины и условий заражения?

2.Какие методы лабораторной диагностики Вы можете отметить для туляремии, исходя из знания патогенеза, клинической картины и условий заражения?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №8

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КОНТАКТНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители сибирской язвы и чумы).***

Учебная цель:
1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сибирской язвы и чумы.

Студент должен знать:
1.Биологические свойства и лабораторную диагностику сибирской язвы и чумы.
2. Специфическую профилактику сибирской язвы и чумы.

Студент должен уметь:
1. Поставить реакцию термокольцепреципитации по Асколи.
2. Приготовить мазок и окрасить по методу Грама.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителя сибирской язвы и чумы
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемого заболевания.
3. Принципы микробиологической диагностики сибирской язвы и чумы.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сибирской язвы и чумы.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Постановка реакции термокольцепреципитации по Асколи.

2. Учет реакции РП по Асколи и сделать заключение.

3. Демонстрационный мазок из автоклавированного гноя карбункула от больного сибирской язвой. Окраска по Граму.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сибиреязвенные бациллы – очень крупные (6-10 мкм) грамположительные палочки с обрубленными концам, в мазке из чистой культуры располагаются короткими цепочками (стрептобациллы). Неподвижны, образуют расположенные центрально споры, а также капсулы.

Культуральные свойства: Сибиреязвенные бациллы – аэробы. Хорошо растут на простых питательных средах, при температуре 12-45 С. На жидких средах дают придонный рост в виде комочка ваты; на плотных средах образуют крупные, с неровными краями, шероховатые матовые колонии под лупой колонии напоминают гриву льва или голову медузы. На средах, содержащих 0,05- 0,5 ЕД/мл пенициллина, через 3-6 ч роста сибиреязвенные бациллы образуют сферопласты, расположенные цепочкой и напоминающие в мазке жемчужное ожерелье .

Биохимические свойства: Ферментирует до кислоты глюкозу, сахорозу, мальтозу, крахмал, инулин; обладают протеолитической и липолитической активностью. Выделяет желатиназу, проявляют низкую гемолитическую, лецитиназную и фосфатазную активность.

Антигены и факторы патогенности: Содержат родовой соматический полисахаридный и видовой белковый капсульный антигены. Образуют белковый экзотоксин, обладающий антигенными свойствами и состоящий из нескольких компонентов (летальный, протективный и вызывающий отеки). Патогенен для человека и многих животных.

Резистентность: Вегетативная форма неустойчива к факторам окружающей среды, однако споры чрезвычайно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятки лет, выдерживают кипячение и автоклавирование. Сибиреязвенные бациллы чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам; споры устойчивы к антисептикам и дезинфектантам. Спороцидным эффектом обладают активированные растворы хлорамина, горячего формальдегида, перекиси водорода.

Эпидемиология и патогенез: Источник инфекции - больные животные. Чаще крупный рогатый скот: овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды, свиньи. Человек является биологическим тупиком. Для сибирской язвы характерно множественность механизмов, путей и факторов передачи. Человек заражается в основном контактным путем, реже алиментарно, аэрогенно и др. при уходе за больными животными, убое, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов. Восприимчивость к возбудителю относительно невысокая.

Входными воротами инфекции в большинстве случаев являются поврежденная кожа, значительно реже слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. В основе патогенеза лежит действие экзотоксина возбудителя, отдельные фракции которого вызывают коагуляцию белков, отек тканей, приводят к развитию инфекционно-токсического шока.

Клиническая картина: Различают кожную, легочную и кишечную формы сибирской язвы. При кожной форме на месте внедрения возбудителя появляется характерный сибиреязвенный карбункул (геморрагически-некротическое воспаление глубоких слоев кожи с некрозом кожи и образованием буро-черной корки), эта форма сопровождается отеком. Легочная и кишечная формы относятся к генерализованным формам и выражаются геморрагическим и некротическим поражением соответствующих органов.

Продолжительность инкубационного периода - от нескольких часов до 8 дней, в среднем 2-3 дня. Генерализованные формы в 100% случаев заканчиваются летально.

Микробиологическая диагностика: Материалом для исследования служат содержимое карбункула, мокрота, кал, кровь, моча. Микробиологическую диагностику проводят с соблюдением правил техники безопасности, как при особо опасных инфекциях. Для диагностики применяют все 5 методов микробиологической диагностики. Мазки окрашивают по грамму, а для обнаружения капсул - по Рамановскому–Гимзе, спор - по Ожешке. Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на мясопептонный агар и мясопептонный бульон, а также заражают лабораторных животных

(белых мышей, морских свинок). Выделенную чистую культуру идентифицируют по общепринятой схеме с учетом морфологии, характера роста на МПА и МПБ, биохимических и культуральных свойств. Сибиреязвенные антигены определяют в РИФ и реакции термопреципитации по Асколи исследуют также трупы животных, кожу и изделия из нее, шкурки, меха, шерсть и прочие изделия из животного сырья.

Лечение: Применяют антибиотики и сибиреязвенные иммуноглобулин.

Профилактика: Для специфической профилактики используют живую сибиреязвенную вакцину СТИ (санитарно-технический институт). Для экстренной профилактики назначают сибиреязвенный иммуноглобулин.

Чума (лат. pestis — зараза) — острое природно-очаговое инфекционное заболевание группы карантинных инфекций, протекающее с исключительно тяжёлым общим состоянием, лихорадкой, поражением лимфоузлов, лёгких и других внутренних органов, часто с развитием сепсиса. Заболевание характеризуется высокой летальностью и крайне высокой заразностью.

Чумная палочка (лат. Yersinia pestis) — бактерия, открытая в 1894 году одновременно двумя учёными: французом Александром Йерсеном и японцем Китасато Сибасабуро.

Инкубационный период длится от нескольких часов до 3—6 дней. Наиболее распространённые формы чумы — бубонная и лёгочная. Смертность при бубонной форме чумы достигала 95 %, при лёгочной — 98-99 %. В настоящее время при правильном лечении смертность составляет 5-10 %.

Известные эпидемии чумы, унёсшие миллионы жизней, оставили глубокий след в истории человечества.

Возбудитель чумы устойчив к низким температурам, хорошо сохраняется в мокроте, но при температуре 55 °С погибает в течение 10—15 мин, а при кипячении — практически немедленно. Попадает в организм через кожу (при укусе блохи, как правило, Xenopsylla cheopis), слизистые оболочки дыхательных путей, пищеварительного тракта, конъюнктивы.

По основному носителю природные очаги чумы подразделяют на сусликовые, сурочьи, песчаночьи, полевочьи и пищуховые. Помимо диких грызунов, в эпизоотический процесс иногда включаются так называемые синантропные грызуны (в частности, крысы и мышевидные), а также некоторые дикие животные (зайцы, лисы), являющиеся объектом охоты. Из домашних животных чумой болеют верблюды.

В природном очаге заражение обычно происходит через укус блохи, ранее питавшейся на больном грызуне. При укусе заражённых чумными бактериями блох у человека на месте укуса может возникнуть папула или пустула, наполненная геморрагическим содержимым (кожная форма). Затем процесс распространяется по лимфатическим сосудам без проявления лимфангита. Размножение бактерий в макрофагах лимфатических узлов приводит к их резкому увеличению, слиянию и образованию конгломерата (бубонная форма). Дальнейшая генерализация инфекции, которая не является строго обязательной, тем более в условиях современной антибактериальной терапии, может приводить к развитию септической формы, сопровождающейся поражением практически всех внутренних органов. Однако с эпидемиологических позиций важнейшую роль играют «отсевы» инфекции в лёгочную ткань с развитием лёгочной формы болезни. С момента развития чумной пневмонии больной человек сам становится источником заражения, но при этом от человека к человеку уже передаётся лёгочная форма болезни — крайне опасная, с очень быстрым течением.

Установление точного диагноза необходимо осуществить с помощью бактериологических исследований. Материалом для них является пунктат нагноившегося лимфатического узла, мокрота, кровь больного, отделяемое свищей и язв.

Лабораторная диагностика осуществляется с помощью флюоресцентной специфической антисыворотки, которой окрашивают мазки отделяемого язв, пунктата лимфатических узлов, культуры, полученной на кровяном агаре.

Впервые вакцину против чумы создал в начале XX века Владимир Хавкин.

Лечение больных чумой в настоящее время сводится к применению антибиотиков, сульфаниламидов и лечебной противочумной сыворотки. Профилактика возможных очагов заболевания заключается в проведении специальных карантинных мероприятий в портовых городах, дератизации всех судов, которые ходят международными рейсами, создании специальных противочумных учреждений в степных местностях, где водятся грызуны, выявлении эпизоотий чумы среди грызунов и борьбе с ними. Вспышки заболевания до сих пор встречаются в некоторых странах Азии, Африки и Южной Америки.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Реакцию термопреципитации обычно используют для поиска сибиреязвенного антигена в:
А. Моче
Б. Испражнениях
В. Ликворе
Г. Шерсти и шкурах животных
2.Питательные среды для культивирования возбудителя сибирской язвы:
А. ЖСА
Б. Кровяной агар
В. Щелочной агар
Г. МПА
3.Морфологические и тинкториальные свойства сибиреязвенных бацилл:
А. Грамположительные стрептобациллы
Б. Образуют капсулу
В. Образуют споры
Г. Подвижны
4. Факторы патогенности сибиреязвенных бацилл:
А. Пили
Б. Споры
В. Эндотоксин
Г. Экзотоксин
5. Тест «жемчужного ожерелья» на среде с пенициллином применяют для индентификации:
А. Иерсинии
Б. Франциселл
В. Бруцелл
Г.Сибиреязвенных бацилл.

ПРПАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №9

ТЕМА: Диагностика риккетсиозов, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов.

Учебная цель:
1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов

Студент должен знать:
1.Биологические свойства и лабораторную диагностику сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов
2. Специфическую профилактику сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов.

Студент должен уметь:
1.Поставить реакцию связывания комплемента при сыпном тифе.
2.Поставить реакцию агглютинации при сыпном тифе.

3.Поставить реакцию непрямой гемагглютинации при сыпном тифе.
4. Поставить реакцию иммунофлюоресценции при сыпном тифе.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей сыпного тифа, **хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов**
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.

Принципы микробиологической диагностики сыпного тифа, **хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов**

3.Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сыпного тифа, **хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов**

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА.

1.Постановка реакции связывания комплемента при сыпном тифе с двумя антигенами (из риккетсии Провачека и Музера). Учет результатов РСК(демонстрация).
2.Постановка реакцию агглютинации при сыпном тифе (реакция Вейля-Феликса -к протею ОХ19). Учет результатов РА (демонстрация).
3. Постановка РНГА при сыпном тифе (с эритроцитарным антигеном).
4. Постановка РПГА с эритроцитарным диагностикумом при чуме. Учет результатов РПГА (демонстрация).
5.Постановка реакцию иммунофлюоресценции (демонстрация).
6.Микроскопия готовых препаратов с возбудителем **хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов** и риккетсиями.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сыпной тиф — группа инфекционных заболеваний, вызываемых риккетсиями, общее острое инфекционное заболевание, передающееся от больного человека к здоровому через вшей.

*Эпидемиология.*В настоящее время высокая заболеваемость сыпным тифом сохранилась лишь в некоторых развивающихся странах. Однако многолетнее сохранение риккетсий у ранее переболевших сыпным тифом и периодическое появление рецидивов в виде болезни Брилля—Цинссера не возможно при ухудшении социальных условий (повышенная миграция населения, педикулез, ухудшение питания и др.).

Источником инфекции является больной человек, начиная с последних 2—3 дней инкубационного периода и до 7—8-го дня с момента нормализации температуры тела. После этого, хотя риккетсий могут длительно сохраняться в организме, реконвалесцент уже опасности для окружающих не представляет. Сыпной тиф передается через вшей, преимущественно через платяных, реже через головных. После питания кровью больного вошь становится заразной через 5—6 дней и до конца жизни (то есть 30—40 дней). Заражение человека происходит путем втирания фекалий вшей в повреждения кожи (в расчесы). Известны случаи инфицирования при переливании крови, взятой у доноров в последние дни инкубационного периода. Риккетсия, циркулирующая в Северной Америке (R. canada), передается клещами.

Эндемический сыпной тиф

Эндемический сыпной тиф (крысиный, блошиный или американский сыпной тиф) вызывается риккетсиями R. mooseri. В США ежегодно регистрируется около 40 случаев заболевания. Оно встречается в регионах с относительно теплым климатом в обоих полушариях, преимущественно летом и в основном среди сельских жителей; протекает легче, чем эпидемический тиф. Это болезнь главным образом крыс, которая передается человеку при укусе крысиными блохами. Поэтому борьба с крысами чрезвычайно важна как мера профилактики.

Эпидемический сыпной тиф

Эпидемический сыпной тиф, известный также как классический, европейский или

вшивый сыпной тиф, корабельная или тюремная лихорадка, вызывается риккетсиями Провачека.

Возбудитель - грамотрицательная мелкая неподвижная бактерия Rickettsia prowazeki. Спор и капсул не образует, морфологически полиморфна: может иметь вид кокков, палочек; все формы сохраняют патогенность. Обычно их окрашивают по методу Романовского-Гимзы или серебрением по Морозову. Культивируют на сложных питательных средах, в куриных эмбрионах, в лёгких белых мышей. Размножаются только в цитоплазме и никогда в ядрах инфицированных клеток. Обладают соматическим термостабильным и типоспецифическим термолабильным антигеном, содержат гемолизины и эндотоксины. В испражнениях вшей, попадающих на одежду, сохраняет жизнеспособность и патогенность в течение 3 мес и более. При температуре 56 °С погибает за 10 мин, при 100 °С - за 30 с. Быстро инактивируется под действием хлорамина, формалина, лизола, кислот, щелочей в обычных концентрациях. Отнесена ко второй группе патогенности.

Патогенез.

Воротами инфекции являются мелкие повреждения кожи (чаще расчесы), уже через 5—15 мин риккетсий проникают в кровь. Размножение риккетсий происходит внутриклеточно в эндотелии сосудов. Это приводит к набуханию и десквамации эндотелиальных клеток. Попавшие в ток крови клетки разрушаются, высвобождающиеся при этом риккетсий поражают новые эндотелиальные клетки. Наиболее бурно процесс размножения риккетсий происходит в последние дни инкубационного периода и в первые дни лихорадки.

Диагноз спорадических случаев в начальный период болезни (до появления типичной экзантемы) очень труден. Серологические реакции становятся положительными также лишь с 4—7-го дня от начала болезни. Во время эпидемических вспышек диагноз облегчается эпидемиологическими данными (сведения о заболеваемости, наличии завшивленности, контакт с больными сыпным тифом и др.). При появлении экзантемы (то есть с 4—6-го дня болезни) клинический диагноз уже возможен. Сроки появления и характер сыпи, гиперемия лица, энантема Розенберга, пятна Киари—Авцына, изменения со стороны нервной системы — все это позволяет дифференцировать в первую очередь от брюшного тифа (постепенное начало, заторможенность больных, изменения со стороны органов пищеварения, более позднее появление экзантемы в виде розеоло-папулезной мономорфной сыпи, отсутствие петехий и др.).

Необходимо дифференцировать и от других инфекционных болезней, протекающих с экзантемой, в частности, с другими риккетсиозами (эндемический сыпной тиф, клещевой риккетсиоз Северной Азии и др.). Некоторое дифференциально-диагностическое значение имеет картина крови. При сыпном тифе характерным является умеренный нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом, эозинопения и лимфопения, умеренное повышение СОЭ.

Для подтверждения диагноза используют различные серологические реакции. Сохранила некоторое значение реакция Вейля—Феликса — реакция агглютинации с протеем OXig, особенно при нарастании титра антител в ходе болезни. Чаще используют РСК с риккетсиозным антигеном (приготовленным из риккетсий Провачека), диагностическим титром считается 1:160 и выше, а также нарастание титра антител. Используют и другие серологические реакции (реакция микроагглютинации, гемагглютинации и др.).

В меморандуме совещания ВОЗ по риккетсиозам (1993) в качестве рекомендуемой диагностической процедуры рекомендована непрямая реакция иммунофлюоресценции. В острую фазу болезни (и периода реконвалесценции) антитела связаны с IgM, что используется для отличия от антител в результате ранее перенесенной болезни. Антитела начинают выявляться в сыворотке крови с 4—7-го дня от начала болезни, максимального титра достигают через 4-6 нед от начала заболевания, затем титры медленно снижаются. После перенесенного сыпного тифа риккетсий Провачека в течение многих лет сохраняются в организме реконвалесцента, это обусловливает длительное сохранение антител (связаны с IgG также в течение многих лет, хотя и в невысоких титрах). В последнее время с

диагностическими целями используют пробную терапию антибиотиками тетрациклиновой группы. Если при назначении тетрациклина (в обычных терапевтических дозах) через 24—48 ч не наступает нормализация температуры тела, то это позволяет исключить сыпной тиф (если лихорадка не связана с каким-либо осложнением).

Основным *этиотропным препаратом* в настоящее время являются антибиотики тетрациклиновой группы, при непереносимости их эффективным оказывается и левомицетин (хлорамфеникол).

Для *профилактики* сыпного тифа большое значение имеет борьба со вшивостью, ранняя диагностика, изоляция и госпитализация больных сыпным тифом, необходима тщательная санитарная обработка больных в приемном покое стационара и дезинсекция одежды больного. *Для специфической профилактики* использовалась инактивированная формалином вакцина, содержащая убитые риккетсии Провачека. Вакцины использовались во время повышенной заболеваемости и были эффективными. В настоящее время при наличии активных инсектицидов, эффективных методов этиотропной терапии и низкой заболеваемости значение противосыпнотифозной вакцинации значительно снизилось.

Причиной **урогенитальных хламидиозов** являются хламидии - грамотрицательные бактерии, которые утратили некоторые важные механизмы выработки метаболической энергии. Этот дефект обусловливает их внутриклеточный рост, благодаря которому они имеют доступ к богатым энергией промежуточным продуктам метаболизма. Их делят на два вида - Clamydia trachomatis, объединяющий возбудителей болезней человека, и Clamydia psitaci, включающий родственные микроорганизмы, первично поражающие млекопитающих и птиц. Вместе они образуют род Clamydia, представители которого обладают бактериоподобными морфологическими характеристиками и уникальным циклом развития.

Хламидии в процессе репродукции претерпевают ряд последовательных изменений. Инфекционная частица представляет собой маленькую клетку (элементарное тельце) диаметром около 0,3 мкм с электронно-плотным нуклеоидом. Эта частица проникает в клетку хозяина при фагоцитозе. Из поверхностных мембран клетки хозяина вокруг этой маленькой частицы образуется вакуоль. Маленькая частица превращается в крупную (ретикулярное тельце), диаметром 0,5-1,0 мкм, которая лишена электронно-плотного нуклеоида. Внутри образованной мембранной вакуоли крупная частица увеличивается и многократно делится путем образования поперечной перегородки. В конечном счете вся вакуоль заполняется мелкими частицами, образовавшимися из крупных телец при их поперечном делении, и превращается во "включение" в цитоплазме клетки хозяина. Новообразованные мелкие частицы могут выходить из клетки хозяина и инфицировать новые клетки. Цикл размножения хламидии реализуется при их взаимодействии с чувствительной клеткой и занимает 24-48 ч.

Хламидийная инфекция у мужчин и женщин наиболее часто имеет инкубационный период от 5-7 до 30 дней. Она может вызывать различную патологию.

У мужчин первично поражаются мочеиспускательный канал, а затем и другие органы (предстательная железа, семенные пузырьки, придатки). У женщин чаще поражается канал шейки матки, после чего может возникнуть и восходящая инфекция, захватывающая матку, маточные трубы, яичники, а также брюшину.

Хламидий не являются представителями нормальной микрофлоры человека. Их обнаружение указывает на инфекционный процесс, а отсутствие клинических симптомов заболевания определяет лишь временное равновесие между паразитом и хозяином в условиях, ограничивающих размножение патогенного внутриклеточного микроорганизма, но не препятствующих ему.

Клинически бессимптомиая хламидийная инфекция не менее опасна, чем ее манифестные формы, и требует лечебных и профилактических мероприятий.

Для выявления хламидийной инфекции используют различные методы как прямого определения возбудителя, так и косвенного серологического обследования.

Материалом для исследования при урогенитальном хламидиозе являются мазки, соскобы со слизистой уретры, цервикального канала, шейки матки, прямой кишки, конъюнктивы, которые забирают специальной ложечкой, специальными тампонами, щеточками или платиновой петлей. Забор материала является самым ответственным этапом диагностики. При исследовании на хламидии культуральным методом пациенты не должны применять антибиотики и другие препараты, активные в отношении хламидии в течение месяца. Если используются цитологические методы, препараты нельзя применять за 2 недели до исследования.

Культуральиый метод выявления хламидий - "золотой стандарт" - является наиболее информативным (100% чувствительность), но в силу высокой стоимости и трудоемкости не имеет широкого распространения. Этот метод очень важен при подозрении на длительную инфекцию.

Цитологический метод заключается в микроскопическом исследовании поверхностных соскобов эпителиальных клеток, взятых из уретры, цервикального канала и других слизистых оболочек с целью обнаружить хламидии. В приготовленных мазках, которые преимущественно окрашивают, определяют наличие в клеточных элементах специфических хламидийных включений. Эти внутриклеточные включения чаще выявляются при свежей и нелеченной инфекции. Метод простой, доступный, однако недостаточно чувствительный; позволяет диагностировать хламидийную инфекцию не более чем у 15-20% больных.

Иммунофлюоресцентный метод - окрашивание хламидийных антигенов иммунофлюоресцентными красителями на основе моноклональных антител. Его недостатком является субъективность оценки результатов.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике хламидийной инфекции является методом определения специфического участка ДНК с помощью ДНК-анализатора. Он обладает очень высокой чувствительностью и специфичностью.

Серологический метод выявления хламидий - обнаружение антихламидийных антител в крови. При острой инфекции диагностическое значение имеет обнаружение хламидийных иммуноглобулинов М (IgM) -антител либо 4-кратное нарастание титров иммуноглобулина G (IgG) в динамике через 2 недели. Средние и низкие титры антител к хламидиям, как правило, характерны для хламидийной клетки, поглощенной *Trichomonas vaginalis* (во время лечения происходят разрушение трихомонадной клетки и выход во внеклеточное пространство новой порции хламидии, которые, в свою очередь, стимулируют выработку антител в организме). Нельзя с уверенностью заявлять об инфицированной хламидиозом лишь на основании наличия антихламидийных антител. Только сочетание различных методов (не менее 2 одновременно и один из них ПЦР) дает необходимую точность диагностики урогенитального хламидиоза как для постановки первичного диагноза, так и для контроля излеченности.

Эрлихиозы — группа зоонозных, преимущественно трансмиссивных, распространяемых клещами инфекций, протекающих в виде остролихорадочных заболеваний с миалгиями, сыпью, увеличением лимфатических узлов, печени и селезенки, выраженной панцитопенией и иногда с развитием полиорганной недостаточности.

Эрлихии были давно известны ветеринарам как возбудители гемолитической анемии рогатого скота в Азии под названиями Anaplasia marginatus (1910) и Cowdria rumminantium (1925). В 1935 г. F. Donatien и Lestoquard в Алжире с помощью окраски по Giemsa обнаружили в циркулирующих моноцитах больных собак внутриклеточный вакуолеобразующий микроорганизм, который был отнесен риккетсиям вновь образованного в 1937 г. рода Ehrlichia, названного так в честь великого немецкого микробиолога Paul Ehrlich.

В 1953 г. в Японии сходный микроорганизм был выделен M. Kobayashi из крови, костного мозга и моноцитов 25-летнего мужчины, страдавшего мононуклеозоподобным заболеванием,

известном в странах Дальнего Востока как «sennetsu fever». Детальное описание этого заболевания, возбудитель которого в 1984 г. был отнесен к роду Ehrlichia, было представлено N. Tachibana в 1986 г. в Малайзии В последующие годы в различных регионах мира, преимущественно в Америке, были выделены новые виды эрлихий и описаны варианты инфекции у человека.

Возбудители относятся к роду Ehrlichia, трибу Erhlichieae, семейству Rickettsiaceae, порядку Rickettsiales, являются мелкими (1-3 мкм) кокмэвидными микроорганизмами, которые паразитируют в лейкоцитах (моноцитах, гранулоцитах, лимфоцитах) с образованием заключенных в вакуоли колоний (до 30-40 эрлихий в одной вакуоли), известных как морулы (от лат. morula — множ. число названия ягод ежевики).

В настоящее время описано более 10 видов патогенных для животных и человека эрлихий, которые в соответствии с результатами анализа 16rRNA-rem подразделены на 3 группы: группа Ehrlichia sennetsu (E. sennetsu, E. risticii, Neorickettsia helminthoceae), группа Ehrlichia canis (E. canis, E. chaffeensis, E ewingii) и группа Ehrlichia phagocytophila (E. phagocytophila, E. equi, HGE-agent — агент, вызывающий гранупоцитотропный эрлихиоз человека, Anaplasma marginatus), а также несгруппированные виды.

Большинство эрлихиозов — зоонозные кровяные трансмиссивные инфекции, возбудители которых передаются при кровососании клещей (нимфы, имаго). У последних наблюдается трансстадиальная передача эрлихий, но трансовариальная передача возбудителей не установлена.

Эрлихиоз сеннетцу развивается после заглатывания возбудителей с термически плохо обработанной морской рыбой.

Для человека патогенными являются эрлихий группы E. canis (возбудители моноцитотропного эрлихиоза человека, или Human monocytotropic ehrlichiosis — HME), группы E. phagocytophila (возбудители гранулоцитотропного эрлихиоза человека, или Human granulocytotropic ehrlichiosis — HGE), и E sennetsu, возбудитель **лихорадки сеннетцу** (Sennetsu fever). В связи с тем, что эрлихий одного вида могут паразитировать в клетках различного типа, терминология, основанная на цитотропности возбудителей, не всегда является корректной.

Клинический диагноз основан на выявлении остролихорадочного заболевания с выраженной лейкопенией и тромбоцитопенией у пациента, подвергавшегося нападению клещей. Дифференцировать МЭЧ необходимо с ПЛСГ, ОРВИ, сепсисом, лептоспирозом, болезнью Лайма, коксиеллезом.

Верификация диагноза достигается выделением культуры эрлихий, однако это требует специальных сред и условий, поэтому в широкой практике используется редко. При микроскопии окрашенных по Giemsa препаратов крови морулы эрлихий в моноцитах обнаруживаются редко (около 7% случаев).

Основным методом специфической, но как правило ретроспективной диагностики является НРИФ, выявляющая нарастающий в динамике титр антител к E. chaffeensis или E. cams классов IgM и IgG (с > 1:80 в конце 2-й недели до 1:1280 на 4-6-й неделе болезни). Разработаны методы диагностики МЭЧ с помощью PCR.

Этиотропными препаратами выбора являются тетрациклиновые производные: тетрациклин (Hexacycline) по 0,25 г 4 раза в сутки или доксициклин (Vibramycine) по 0,1 г дважды в сутки в течение 5-7 дней. Беременным и детям моложе 8 лет вместо тетрациклиновых препаратов назначают рифампицин (Rifadine) по 300 мг дважды в сутки в течение 5-7 дней. В отличие от риккетсиозов при эрлихиозах противопоказан левомицетин (Chloramphenicol). При тяжелом течении болезни проводят патогенетическую и иногда интенсивную терапию.

Профилактика направлена на предупреждение нападения клещей с помощью репеллентов и использования защитной одежды. Разрабатывается вакцинопрофилактика.

Гранулоцитарный эрлихиоз

Возбудители — эрлихии группы E. phagocytophila (E. phagocytophila, E. equi, HGE-agent).

Резервуаром E. phagocytophila служат белоногие мыши, олени, бизоны, собаки, лошади, овцы, крупный рогатый скот. Механизм заражения — кровяной трансмиссивный, реализуется при кровососании иксодовых клещей. Переносчиками возбудителей являются иксодовые клещи Ixodes scapulans, I. pacificus в американском регионе,/ ricinus в Европе.

Заболевания регистрируются круглогодично, преимущественно среди сельских жителей, особенно мужчин зрелого возраста (80% случаев), с сезонным подъемом заболеваемости в период активности клещей (июль-ноябрь). Большая часть случаев ГЭЧ (около 500) зарегистрирована в США (11 штатов), спорадические заболевания отмечаются в странах Северной и Центральной Европы.

Из места инокуляции эрлихий, где часто образуется первичный аффект, возбудители лимфогенно проникают в кровь и гематогенно диссеминируют, внедряясь в миелоидные клетки костного мозга, циркулирующие нейтрофильные лейкоциты. Развивается эритрофагия, формируются грануломы и очаги некроза в печени, фокальные некрозы в селезенке, воспалительные инфильтраты и кровоизлияния в легких. В результате поражения нейтрофилов наблюдается активизация оппортунистических инфекций.

У реконвалесцентов развивается стойкий иммунитет.

Манифестация инфекции наблюдается у небольшой части серопозитивных лиц и обычно развивается в виде доброкачественного заболевания.

Инкубационный период составляет 4-8 дней.

Начало болезни острое, «гриппоподобное», характеризуется быстрым подъемом температуры тела до 39-40 °С, распространенными миалгиями, артралгиями, головной болью, слабостью. В месте присасывания клеща может выявляться первичный аффект в виде папуло-везикулы или язвы под корочкой.

У 1/3 больных отмечается тошнота, рвота и диарея, в 2-10% случаев появляется макулопапулезная распространенная сыпь, иногда в виде эритематозных полей. Более чем у 1/4 больных наблюдаются одышка и малопродуктивный кашель.

В большинстве случаев через 1-2 нед наступает выздоровление.

У ряда больных наблюдается коинфекция Borrelm burgdorferi и Babesia microti.

Лабораторные исследования выявляют выраженную лейкопению (гранулоцитопению), тромбоцитопению, повышение активности АлАТ и АсАТ. Иногда выявляется панцитопения при сохраненном или повышенном клеточном составе костного мозга.

У иммунокомпрометированных пациентов заболевание может осложняться развитием респираторного дистресс-синдрома, ИТШ, иногда — менингоэнцефалита с утратой сознания.

Прогноз обычно благоприятный, летальность менее 1%, наблюдается у пациентов с неблагополучным преморбидным фоном.

Клинический диагноз устанавливается на основании эпидемиологических сведений о нападении иксодовых клещей, после которого возникает гриппоподобное заболевание с выраженной нейтропенией, тромбоцитопенией и повышением активности аминотрансфераз.

Дифференциальный диагноз проводят с болезнью Лайма, ОРВИ, энтероколитом, пневмонией, коксиеллезом

Специфическая диагностика достигается изоляцией культуры эрлихий (в широкой практике применяется редко) или обнаружением морул E phagocytophi la в нейтрофилах периферической крови В отличие от МЭЧ морулы в гранулоцитах крови обнаруживаются у 50-75% больных ГЭЧ.

Разработаны методы диагностики с помощью PCR.

Серологическая диагностика (НРИФ в титре 1:80 и более) имеет ретроспективное значение, антитела класса IgM к E. phagocy tophi la сохраняются в крови до 1,5 мес от начала болезни. Параллельно проводят серологическое обследование для выявления коинфекции боррелиями и бабезиями

Этиотропная терапия, проводимая как при МЭЧ, обеспечивает редукцию симптомов болезни через 24-48 час.

Профилактика. Защита от нападения клещей.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какой материал для микробиологического исследования следует брать у пациентов при подозрении на хламидиоз?
   1. Отделяемое уретры
   2. Вагинальный мазок
   3. Мазок из зева
   4. Ректальный мазок

2.Какие свойства характерны для хламидий?
   1. Грамотрицательные
   2. Прокариоты
   3.Облигатные внутриклеточные паразиты
   4.Имеют извитую форму.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ№10

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИПАТОГЕННЫЕ АНАЭРОБЫ, ЗООНОЗЫ, РИККЕТСИОЗЫ, ХЛАМИДИОЗЫ, МИКОПЛАЗМОЗЫ, ЭРЛИХИОЗЫ.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №11

ТЕМА: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ И КОКЛЮША

Учебная цель:
1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша.

Студент должен знать:
1.Биологические свойства и лабораторную диагностику дифтерии, коклюша.
2. Специфическую профилактику дифтерии, коклюша.

Студент должен уметь:
1.Приготовить мазок и окрасить по методу Нейссера.
2. Приготовить мазок и окрасить по методу Грама.
3.Определенить токсигенность дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Поставить пробу на цистиназу и пробу на уреазу дифтерийных и ложно -дифтерийных палочек.

ПЛАН:
1.Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, 4.Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики дифтерии, коклюша.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Приготоление мазка и окраска по методу Нейссера.

2. Приготовление мазка и окраска по методу Грама.
3.Определение токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Проведение проб на цистиназу и на уреазу дифтерийных и ложно -дифтерийных палочек.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Дифтерийная палочка (Corynebacterium diphtheriae) — грамположительные палочковидные бактерии рода Corynebacterium. Впервые возбудитель был обнаружен на срезах пленок, полученных из ротоглотки больных в 1883 г. Эдвином Клебсом (нем. Edwin Klebs, 1834—1913). Через год Фридрихом Лёффлером (нем. Friedrich August Johannes Löffler, 1852—1915) была выделена чистая культура. Дифтерийный токсин получили Э. Ру и А. Иерсен (1884—1888 гг.). Анатоксин обнаружил Рамон Гастон в 1923 г. и предложил использовать его для активной иммунизации. Corynebacterium diphtheriae — крупные (1—8 × 0,3—0,8 мкм) прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метахроматические зёрна волютина, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. На микропрепаратах располагаются одиночно или вследствие особенностей деления клеток располагаются в форме латинской буквы V или Y. Спор и капсул не образуют.

Эпидемиология. Источником инфекции при дифтерии являются люди - больные или здоровые носители токсигенных дифтерийных микробов. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные дифтерией зева, носа и гортани, активно выделяющие возбудителей заболевания во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. Незначительное в этом отношении значение играют больные дифтерией глаз, кожи, раны и других локализаций, способные распространять инфекцию контактным путем (через руки, предметы быта).

Патогенез. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых) макроорганизма. Однако наиболее часто ими является слизистая оболочка ротоглотки, намного реже - гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. Токсигенные коринебактерии фиксируются на клетках тканей, размножаются и в процессе жизнедеятельности продуцируют экзотоксин, оказывающий местное и общее воздействие, обусловливающее практически все проявления патологического процесса. Микробные клетки за пределы тканей, являющихся воротами инфекции, как правило, не распространяются и непосредственного участия в поражении макроорганизма не принимают.

Дифтерийный экзотоксин состоит из нескольких фракций, каждая из которых обладает самостоятельным биологическим действием. Одна из них - гиалуронидаза: разрушает гиалуроновую кислоту капилляр и повышает их проницаемость. Это ведет к выходу за пределы сосудов жидкой части крови, пропитыванию пораженных тканей плазмой, содержащей наряду с другими компонентами фибриноген. Вторая - некротоксин - вызывает некроз эпителия на месте ворот инфекции, сопровождающийся выделением из эпителиальных клеток тромбокиназы. Последняя способствует превращению фибриногена в фибрин и образованию на поверхности пораженных тканей фибринной пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибринная пленка проникает глубоко внутрь эпителиального покрова и плотно спаяна с тканями. Третья фракция дифтерийного токсина - истинный дифтерийный токсин (основной его компонент) способен вытеснять из клеточных структур цитохром Б и таким образом блокировать в них процессы клеточного дыхания и синтеза белковых молекул. Наиболее чувствительными к этим изменениям являются миокард, капилляры и нервные клетки. В кардиомиоцитах развиваются явления миокардиодистрофии с последующим их некрозом, миолизом и развитием инфекционно-токсического миокардита. Поражение капилляров при дифтерии сопровождается инфекционно-токсическим шоком. Повреждение нервных клеток сопровождается дистрофическими изменениями шванновских

клеток и демиэлинизацией нервных волокон. Наряду с отмеченным, общее действие дифтерийного токсина проявляется явлениями общей интоксикации.

Основу лабораторной диагностики составляют бактериологические исследования: выделение возбудителя из очага воспаления, определение его типа и токсигенности. Материал отбирают стерильными ватными тампонами, сухими или смоченными (до стерилизации!) 5% раствором глицерина. При хранении и транспортировке тампоны предохраняют от охлаждения и высыхания. Материал должен быть посеян не позднее 2-4 ч после взятия. У больных ангиной, бывших в контакте с больными дифтерией, а также у лиц с типичными клиническими проявлениями дифтерии диагноз ставят даже при отрицательном результате бактериологического исследования.

Вспомогательное значение имеет определение титров антитоксических антител в парных сыворотках при постановке РНГА. Токсинообразование выявляют, используя РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом. Для выявления дифтерийного токсина предложено использовать ПЦР.

Основным в лечении дифтерии считают введение антитоксической противодифтерийной сыворотки. Она нейтрализует токсин, циркулирующий в крови, следовательно, оказывает наибольший эффект при раннем применении

Профилактические мероприятия. Вакцинопрофилактика остаётся основным способом контроля дифтерии. Схема иммунизации детей предусматривает иммунизацию вакциной АКДС начиная с 3 мес жизни (вакцинируют 3-кратно с интервалом 30-40 дней). Ревакцинацию проводят через 9-12 мес после законченной вакцинации. Для ревакцинации в 6-7, 11-12 и 16-17 лет применяют АДС-М. В отдельных случаях, например при противопоказаниях к коклюшному компоненту АКДС, АДС-М применяют и для вакцинации.

Коклюш (wooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракоклюш - острые инфекционные болезни, клинически неотличимые друг от друга. Характеризуется острым катаром дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Возбудитель коклюша (Bordetella pertussis) представляет собой короткую палочку с закругленными концами (0,2-1,2 мкм), грамотрицательную, неподвижную, хорошо окрашивающуюся анилиновыми красками. В антигенном отношении неоднородна. Антиген, который обусловливает образование агглютининов (агглютиноген), состоит из нескольких компонентов. Они названы факторами и обозначаются цифрами от 1 до 14. Фактор 7 является родовым, фактор 1 содержит B. pertussis, 14 - B. parapertussis, остальные встречаются в разных комбинациях; для возбудителя коклюша это факторы 2, 3, 4, 5, 6, для паракоклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракоклюша очень неустойчивы во внешней среде, поэтому посев нужно делать сразу же после взятия материала. Бактерии быстро погибают при высушивании, ультрафиолетовом облучении, под влиянием дезинфицирующих средств. Чувствительны к эритромицину, левомицетину, антибиотикам тетрациклиновой группы, стрептомицину.

Патогенез. Воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Коклюшные микробы прикрепляются к клеткам мерцательного эпителия, где они размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. На месте внедрения возбудителя развивается воспалительный процесс, угнетается деятельность ресничного аппарата клеток эпителия и увеличивается секреция слизи. В дальнейшем происходит изъязвление эпителия дыхательных путей и очаговый некроз. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, менее выраженные изменения развиваются в трахее, гортани и носоглотке. Слизисто-гнойные пробочки закупоривают просвет мелких бронхов, развивается очаговый ателектаз, эмфизема. Наблюдается перибронхиальная инфильтрация. В генезе судорожных приступов имеет значение сенсибилизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение

рецепторов дыхательных путей обусловливает кашель и приводит к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты. Вследствие этого типичные приступы спазматического кашля могут быть вызваны и неспецифическими раздражителями. Из доминантного очага возбуждение может иррадиировать и на другие отделы нервной системы, например на сосудодвигательный (повышение АД, спазм сосудов). Иррадиацией возбуждения объясняется также появление судорожных сокращений мышц лица и туловища, рвоты и других симптомов коклюша. Перенесенный коклюш (как и противококлюшные прививки) не обеспечивает напряженного пожизненного иммунитета, поэтому возможны повторные заболевания коклюшем (около 5% случаев коклюша приходится на взрослых людей).

Достоверный диагноз в катаральном периоде может быть поставлен после получения результатов бактериологических исследований. Основанием для исследования в этих случаях обычно служат эпидемиологические данные (контакт с больными коклюшем, отсутствие данных о прививках и др.). В периоде спазматического кашля диагноз коклюша поставить значительно легче, так как появляются типичные приступы. Однако нужно учитывать, что иногда приступы кашля, сходные с коклюшными, могут быть обусловлены другими причинами (аденовирусная инфекция, вирусные пневмонии, сдавление дыхательных путей при злокачественных новообразованиях, инфекционном мононуклеозе и др.), с другой стороны, коклюш может протекать атипично без характерных приступов (у привитых детей, у взрослых). Основным методом лабораторного подтверждения диагноза является выделение возбудителя коклюша. Частота выделения зависит от сроков взятия материала; на 1-й неделе заболевания положительные результаты удается получить у 95% больных, на 4-й - лишь у 50%, а начиная с 5-й недели, микроб выделить уже не удается. Материал из носоглотки берут сухим тампоном с немедленным посевом на чашки с селективной питательной средой. Используют также метод "кашлевых пластинок", при котором чашка Петри с питательной средой устанавливается перед ртом кашляющего ребенка (на расстоянии около 10 см), удерживается в таком положении несколько секунд, чтобы уловить 5-6 кашлевых толчков. Чашку с посевом быстро закрывают крышкой и помещают в термостат. При транспортировке оберегают от охлаждения (заворачивают в бумагу, вату, в контейнер помещают грелку, заполненную горячей водой). Однако по частоте выделения возбудителей коклюша метод "кашлевых пластинок" значительно уступает взятию материала тампоном. Серологические методы можно использовать для ретроспективной диагностики, а также у больных с отрицательными результатами бактериологических исследований. Из старых методов можно использовать РСК, РПГА, реакцию агглютинации. Диагностическим считается нарастание титров антител в 4 раза и более, а также высокие титры антител (1:80 и выше).

В последнее время успешно используют иммуноферментный метод для обнаружения антител в сыворотке (иммуноглобулины класса М) и в носоглоточной слизи (иммуноглобулины класса А). Эти антитела появляются со 2-3-й недели болезни и сохраняются в течение 3 мес.

Тестовый контроль

1.Методы используемые для окраски дифтерийной палочки:
- А) метод Грама
- Б) метод Нейссера
- В) метод Ожешко
- Г) Метод Циля –Нельсена

2.Биологические варианты дифтерийной палочки:
- А) Гравис
- Б) Митис
- Г) Интермедиус

3.Какие ассоциированные препараты используют для профилактики дифтерии, коклюша:

А) АКДС

Б) брюшнотифозная вакцина с тетраанатоксином.

Задача №1

При обследовании на дифтерийное носительство из зева воспитательницы детского сада выделили микроб, обладающий следующими свойствами: зерна волютина обнаруживаются у отдельных особей, сахарозу, глюкозу, крахмал не расщепляет, пробы на цистиназу и уреазу отрицательны.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №12

ТЕМА: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕПРЫ

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики туберкулеза.

Студент должен знать:

1.Биологические свойства и лабораторную диагностику туберкулеза,

2. Специфическую профилактику туберкулеза.

Студент должен уметь:

1.Приготовить мазок и окрасить по методу Циля-Нельсена.

2. Приготовить мазок и окрасить по методу Грама.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей туберкулеза.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики туберкулеза.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики туберкулеза.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Микроскопировать микропрепараты: микобактерий туберкулеза, менингококков.

2. Изучить схему лабораторной диагностики туберкулеза.

3.Изучит метод микрокультивирования для экспресс-диагностики туберкулеза;

4. Микроскопировать и зарисовать демонстрационный препарат «микрокультура Мус. Tuberculosis».

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Микобактерии относятся к семейству Mycobacteriaceae, роду Mycobacterium.

Различают: 1) Микобактерии человеческого типа (Mycobacterium tuberculosis), 2) микобактерии бычьего типа (Mycobacterium bovis), 3) микобактерии птичьего типа (Mycobacterium avium), 4) атипичные микобактерии, которые делят на четыре группы (по Раньону):

а) фотохромогенные бактерии, которые растут в темноте в течении 21-46 дней в виде беспигментных колоний, но после освещения дневным или электрическим светом приобретают желтую или оранжевую окраску. Патогенны для людей;

б) скотохромогенные бактерии, которые растут медленно (60-100 дней), образуют желто-оранжевый пигмент в темноте. Некоторые из них патогенны: вызывают поражение лимфатических узлов и легких у детей;

в) нефотохромогенные микобактерии, не образуют пигмента ни на свету, ни в темноте. Патогенны для человека;

г) быстрорастущие микобактерии, растут в течении нескольких дней в виде беспигментных

колоний. К этой группе относятся как потенциально патогенные микобактерии, так и сапрофиты.

Возбудитель туберкулеза: Mycobacterium tuberculosis представляет собой тонкие, слегка изогнутые палочки длиной 2,5-3,5 мкм, отличаются большим полиморфизмом: длинные, ветвистые и зернистые формы. Mycobacterium bovis – короткие, толстые палочки, Mycobacterium avium – нитевидные, ветвистые формы.

Для постановки микробиологического диагноза используют микроскопический, бактериологический, биологический, серологический и аллергический методы исследования. Для исследования может поступить самый разнообразный материал в зависимости от того, где расположен патологический процесс: при туберкулезе легких – мокрота, при туберкулезе почек – моча, при туберкулезном менингите – спинномозговая жидкость

I. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД

Исследуемый материал: мокрота, моча, спинномозговая жидкость. Для «обогащения» мокроты широко используются методы гомогенизации и флотации. При окраске мазков по Цилю-Нильсену туберкулезные палочки окрашиваются в ярко-красный цвет. Применение люминесцентной микроскопии повышает число находок туберкулезных палочек.

Микроскопическое исследование является ориентировочным и позволяет судить лишь о наличии кислотоустойчивых бактерий в материале без определения их видовой и типовой принадлежности.

II. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Особенности метода

Для освобождения от сопутствующей микрофлоры исследуемый материал обрабатывают 10% серной кислотой или 4-6% раствором едкого натрия, а затем центрифугируют. Кислоту нейтрализуют и материал заливают в несколько пробирок со средой Левенштейна-Йенсена или другими специальными средами.

Посевы инкубируют при 37^0 С 4-6 недель и более, так как туберкулезная палочка размножается очень медленно, особенно в первых генерациях. Колонии имеют вид сероватого или светло-кремового морщинистого или крошкообразного сухого налета.

При индентификации чаще всего определяют способность выделенной культуры синтезировать никотиновую кислоту – ниациновая проба Конно – с помощью которой удается отличить M.tuberculosis, хорошо синтезирующие никотиновую кислоту, от палочек M.bovis, образующих ее в минимальных количествах. Атипичные микобактерии обладают высокой каталазной активностью. Пероксидазная активность у них не выявляется. Определение термостабильности каталазы позволяет отдифференцировать вирулентные для человека микобактерии (человеческого и бычьего типов), у которых она термолабильна, от кислотоупорных сапрофитов и атипичных микобактерий, которые образуют термостабильную каталазу.

Для ускоренной диагностики туберкулеза используют метод микрокультур Прайса. Для этого на нескольких предметных стеклах делают толстые мазки из исследуемого материала. Мазки обрабатывают 2-6 % серной кислотой и нейтрализуют щелочью. После этого их помещают во флаконы с гемолизированной цитратной кровью. Через 7-14 дней материал окрашивают по Цилю-Нильсену и микроскопируют – вирулентные штаммы образуют микрокультуры, имеющие вид жгутов или кос (наличие корд-фактора).

III. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Применяется с целью выделения чистой культуры возбудителя туберкулеза из органов животного, зараженного исследуемым материалом, а также для определения вирулентности микобактерий. Исследуемый материал обрабатывают серной кислотой для освобождения от посторонней микрофлоры, нейтрализуют и вводят подкожно морской свинке и кролику с отрицательными туберкулиновыми реакциями. Через 4 месяца, если животное не погибнет, его забивают, проводят макро- и микроскопические исследование органов и делают посевы. M.tuberculosis высокопатогенны для морских свинок и мало

патогенны для кроликов. M.bovis высокопатогенны для кроликов.

IV. СЕРОДИАГНОСТИКА

Используют в качестве дополнительного текста РСК и РПГА. Положительные результаты отмечаются при активном туберкулезе, а также при инфицировании микобактериями туберкулеза и вакцинации.

V. КОЖНО-АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ПРОБА

Ставится с туберкулином (PPO) – очищенной белковой фракцией, полученной из микобактерий туберкулеза, для характеристики, оценки течения туберкулезного процесса, определения эффективности вакцинации и отбора контингентов для ревакцинации против туберкулеза. Туберкулин вводят внутрикожно в строго определенной дозировке (реакция Манту). Результат учитывают через 24-48 часов по образованию гиперемии и папулы

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

Вакцина БЦЖ. Живая, лиофильно высушенная культура апатогенного штамма микобактерий туберкулеза, полученная французскими учеными А. Кальметтом и М. Гереном. Применяется внутрикожно для активной специфической профилактики туберкулеза.

Тестовый контроль

1. Морфологические св-ва возбудителей туберкулеза
   а) Кокки
   б) Тонкие длинные палочки
   в) Короткие палочки
   г) Зернистые формы
   д) Наличие спор
2. Химические в-ва, определяющие кислотоустойчивость микобактерий
   а) Липиды
   б) Белки
   в) углеводы
3. Тесты, характерные для человеческого вида возбудителя
   а) Ниацин-тест (образование никотиновой кислоты)
   б) Генерализованный процесс у морской свинки
   в) Генерализованный процесс у кроликов.
4. Препараты, используемые для кожно-аллергических проб при туберкулезе.
   а) Тулярин
   б) Бруцеллин
   в) Туберкулин
   г) РРД
5. В каком возрасте производится вакцинация против туберкулеза
   а) Первая неделя жизни
   б) 2-3 года
   в) 6-7 лет

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №13

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сифилиса.

Студент должен знать:

1.Биологические свойства и лабораторную диагностику сифилиса.
2. Профилактику сифилиса.

Студент должен уметь:
1.Поставить реакцию связывания комплемента Вассермана.
2.Приготовить мазок и окрасить по методу Романовского-Гимзе.
3.Приготовить мазок и окрасить по методу Грама.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей сифилиса.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет сифилиса.
3. Принципы микробиологической диагностики сифилиса,
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сифилиса.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Постановка реакции связывания комплемента Вассермана.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сифилис — хроническое системное венерическое инфекционное заболевание с поражением кожи, слизистых оболочек, внутренних органов, костей, нервной системы с последовательной сменой стадий болезни, вызываемое бактериями вида *Treponema pallidum* (бледная трепонема) подвида *pallidum*, относящимся к роду трепонема (*Treponema*) семейства *Spirochaetaceae*.

Этиология. Сифилис передаётся в основном половым путём, в связи с чем относится к группе венерических заболеваний, или ИППП (инфекций, передаваемых половым путём). Однако возможна передача сифилиса и через кровь, например, при переливании крови заражённого сифилисом донора, или у инъекционных наркоманов при пользовании общими шприцами и/или общими ёмкостями для растворов наркотиков, или в быту при пользовании общим «кровавым» инструментом типа зубных щёток или бритв.

Бытовой «бескровный» путь заражения сифилисом также не исключён, но весьма редок и требует тесного контакта с больным третичным сифилисом, имеющим открытые сифилитические язвы или распадающиеся сифилитические гуммы, из которых возбудитель может попасть, например, на посуду, из которой пил больной. Также можно перечислить полотенца, ложки, зубные щетки, белье и пр. соприкасающиеся со слизистыми оболочками предметы. Способность мочи и пота больного передавать инфекцию не доказана, в слюне бледные трепонемы обнаруживаются только при наличии высыпаний в полости рта. Возможно, заражение ребёнка молоком матери даже при отсутствии видимых изменений в области молочной железы, также заразной является сперма, даже при отсутствии видимых патологических очагов на половом члене больного. Медицинский персонал может заразиться заболеванием при осуществлении лечебно-диагностических мероприятий, а также при вскрытии трупов больных сифилисом, особенно опасны трупы детей с первично врождённой формой заболевания.

Патогенез. Инкубационный период первичной стадии сифилиса составляет в среднем 3 недели (интервал от нескольких суток до 6 недель) с момента заражения. По окончании инкубационного периода в случае полового или бытового заражения в месте проникновения микроба обычно развивается первичный аффек.

Патогенез сифилиса обусловлен реакцией организма на внедрение в организм больного бледной трепонемы. Особенностями возбудителя обусловливается полиморфность протекающих в зараженном организме процессов, в зависимости от стадии заболевания патологические изменения отличаются довольно значительно.

В классическом течении сифилитической инфекции принято выделять 4 периода:

- Инкубационный;
- Первичный;
- Вторичный;

- Третичный.

Последние три периода обнаруживаются характерной симптоматикой, инкубационный период никак себя не проявляет, и его сроки определяются лишь косвенно после появления клиники.

Диагностика. Диагноз сифилиса в ряде случаев можно заподозрить клинически, но основным методом диагностики и подтверждения предварительного диагноза является серодиагностика. В настоящее время для определения антител к возбудителю используется ИФА, ранее в России для этого применялась реакция Вассермана. Все методы диагностики сифилиса разделяются на следующие группы:

- Прямые и непрямые (косвенные)
- Трепонемные (специфические) и нетрепонемные (неспецифические)
- Отборочные (скрининговые) и подтверждающие (диагностические)
- Приборные, бесприборные.

Прямые трепонемные методы диагностики позволяют обнаружить возбудитель непосредственно в биоматериале. Такими методами являются темнопольная микроскопия, заражение сифилисом кроликов, культуральные методы, ПЦР диагностика.

Каждый из этих методов имеет свои специфические недостатки, которые ограничивают его массовое применение. Метод темнопольной микроскопии может обнаружить возбудитель только при свежем сифилисе, и с его помощью невозможно оценить динамику и эффективность лечения. Методика заражения сифилисом кроликов является дорогостоящей и медленной, и также не позволяет в динамике оценивать состояние больного. Выращивание бледной трепонемы на искусственных средах крайне затруднительно, в связи с чувствительностью возбудителя к условиям среды. Метод ПЦР диагностики позволяет эффективно обнаруживать возбудитель только при первичном и вторичном сифилисе, тест-системы относительно дороги, и исследования эффективности данного метода в диагностике сифилиса ещё продолжаются. Таким образом, мы видим, что методы прямой диагностики мало применимы в клинической практике, в связи с чем, основой диагностики являются различные серологические методики (непрямые).

В соответствии с действующим приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» при серо- и ликвородиагностике сифилиса допускается использование следующих реакций.

- Микрореакции преципитации (непрямой скрининговый метод)
- Реакции пассивной непрямой агглютинации (РПГА)
- Реакции иммунофлуоресценции (РИФ)
- Реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ)
- Иммуноферментный анализ не требуют отдельной регламентации в связи с чем, в приказе № 87 не указаны.

Следует отметить, что ни один из методов диагностики не гарантирует 100 % обнаружения возбудителя. Чувствительность методов составляет 90-98 %, поэтому одновременное использование 2 различных методов исследования может с очень высокой степенью достоверности установить верный диагноз.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какой материал для микробиологического исследования следует брать у пациентов при подозрении насифилис?

1Отделяемое уретры
2Вагинальный мазок
3Мазок из зева
4Отделяемое шанкра

2.Какие свойства характерны для спирохет?

1. Грамотрицательные
2. Прокариоты

3.Облигатные внутриклеточные паразиты
4.Имеют извитую форму.

3. Способы микроскопии спирохет:
1. По Рамоновскому –Гимзе
2. По Граму
3.Фазово-контрастная микроскопия
4.Темнопольная микроскопия.

5. Фибриллы располагаются у спирохет:
1.На поверхности наружной клеточной оболочки
2.Под наружной оболочкой
3.Между оболочкой и протоплазматическим цилиндром

6. Антигены, используемые для постановки РСК при диагностике сифилиса:

А. О-антиген
Б. Кардиолипиновый
В. Растворимый антиген
Г. Трепонемальный специфический

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №14

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЛЕПРЫ, СИФИЛИСА.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №15

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА ОРВИ И ГРИППА

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.

Студент должен знать:

1.Биологические свойства и лабораторную диагностику гриппа, ОРВИ.
2.Специфическую профилактику гриппа, ОРВИ.

Студент должен уметь:

1.Поставить и учесть результаты РИФ при ОРВИ.
2.Поставить и учесть результаты РТГА для сероидентификации при гриппе.
3.Поставить и учесть результаты ИФА для серодиагностики при ОРВИ.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гриппа, ОРВИ,
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
   1. Принципы микробиологической диагностики гриппа, ОРВИ
   2. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гриппа, ОРВИ, кори, краснухи, ветряной оспы, эпидемического паротита.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Разбор поставки и учет результатов РИФ при ОРВИ (демонстрация).
2. Разбор поставки и учет результатов РТГА для сероидентификации при гриппе (демонстрация).
3.Разбор поставки и учет результатов ИФА для серодиагностики при

ОРВИ(демонстрация).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Грипп (от фр. grippe) — острое инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое вирусом гриппа. Входит в группу острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Периодически распространяется в виде эпидемий и пандемий. В настоящее время выявлено более 2000 вариантов вируса гриппа, различающихся между собой антигенным спектром.

Впервые вирус был выделен в 30-е года XX века. Вирусы гриппа относятся к семейству Ortomyxoviridae, которое включает роды Influenza A, B, C. Антигенные свойства внутренних белков вириона (M1 и NP) определяют принадлежность вируса гриппа к роду A, B или C.

Эпидемическое значение для людей имеют вирусы, содержащие три подтипа HA (H1,H2,H3) и два подтипа NA (N1, N2). Вирусы гриппа A и B содержат NA и HA в качестве основных структурных и антигенных компонентов вирусной частицы, обладающих гемагглютинирующей и нейраминидазной активностями. У вируса гриппа C нет нейраминидазы, он обладает вместо этого гемагглютинин-эстеразным (проникающим) белком (HEF). Нить РНК окружена белком и упакована в липопротеидную мембрану. Вирионы способны агглютинировать эритроциты и элюироваться в них с помощью вирусспецифических ферментов.

Вирус гриппа имеет сферическую форму диаметром 80—120 нм, в центре находятся РНК-фрагменты, заключённые в липопротеидную оболочку, на поверхности которой имеются «шипы» состоящие из гемагглютинина (H) и из нейраминидазы (N). Антитела, вырабатываемые в ответ на гемагглютинин (H), составляют основу иммунитета против определённого подтипа возбудителя гриппа

Источником инфекции является больной человек с явной или стёртой формой болезни, выделяющий вирус с кашлем, чиханьем и т. д. Больной заразен с первых часов заболевания и до 5–7-го дня болезни.[5] Характеризуется аэрозольным (вдыхание мельчайших капель слюны, слизи, которые содержат вирус гриппа) механизмом передачи и чрезвычайно быстрым распространением в виде эпидемий и пандемий. Эпидемии гриппа, вызванные серотипом A, возникают примерно каждые 2—3 года, а вызванные серотипом B — каждые 4—6 лет. Серотип C не вызывает эпидемий, только единичные вспышки у детей и ослабленных людей. В виде эпидемий встречается чаще в осенне-зимний период. Периодичность эпидемий связана с частым изменением антигенной структуры вируса при пребываниии его в естественных условиях.

Входными воротами для вируса гриппа являются клетки мерцательного эпителия верхних дыхательных путей — носа, трахеи, бронхов. В этих клетках вирус размножается и приводит к их разрушению и гибели. Этим объясняется раздражение верхних дыхательных путей кашель, чихание, заложенность носа. Проникая в кровь и вызывая виремию, вирус оказывает непосредственное, токсическое действие, проявляющееся в виде повышения температуры, озноба, миалгий, головной боли. Кроме того, вирус повышает сосудистую проницаемость, вызывает развитие стазов и плазмо-геморрагий.

Традиционным способом предупреждения заболевания гриппом является вакцинация. Предложена вакцина для профилактики гриппа в форме живой, убитой (инактивированной), субъединичной вакцины. Вакцинация особенно показана в группах риска — дети, пожилые люди, больные с хроническими заболеваниями сердца и лёгких, а также врачи. Обычно осуществляется, когда эпидемиологический прогноз свидетельствует о целесообразности массовых мероприятий (обычно в середине осени). Возможна и вторая прививка в середине зимы.

Для быстрой диагностики гриппа используют "экспресс-метод" обнаружения вируса гриппа с помощью флуоресцирующих антител. Исследуемый материал берут из носа в первые дни болезни. Приготовленные из него мазки обрабатывают специфическими

гриппозными флуоресцирующими сыворотками. Образовавшийся комплекс антиген-антитело ярко светится в ядре и цитоплазме клеток цилиндрического эпителия и отчетливо виден в люминесцентном микроскопе. Ответ можно получить через 2-3 ч.

Серологические исследования помогают ретроспективной диагностике гриппа. Исследуют парные сыворотки крови, взятые у больных в острый период болезни (до 5-го дня от начала заболевания) и в период реконвалесценции с интервалом 12-14 дней. Наиболее показательными в серологической диагностике являются реакция связывания комплемента (РСК) с гриппозными антигенами и реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Вирус птичьего гриппа относится
   а) к вирусу гриппа типа С
   б) к вирусу гриппа типа А
   в) к вирусу гриппа типа В
   г) к вирусу гриппа типа Д

2.Интерферон обеспечивает противовирусную защиту клетки, т.к. препятствует:
   а) адсорбции вируса на клетке;
   б) проникновению вируса в клетку;
   в) репродукции вируса;
   г) лизису пораженной клетки;
   д) активации киллеров.

3. Установить серологический тип вируса гриппа можно с помощью:
   а) реакции агглютинации на стекле;
   б) реакции торможения гемагглютинации;
   в) реакции непрямой гемагглютинации;
   г) реакции гемагглютинации.
4. В патогенезе вирусных болезней решающую роль играет:
   а) вирулентность вируса;
   б) токсигенность вируса;
   г) уровень лизоцима;
   д) реакция организма на клетки, пораженные вирусом.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №16

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ГЕПАТИТОВ, ГЕРПЕС И ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Учебная цель:
1. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции.

Студент должен знать:
1.Биологические свойства и лабораторную диагностику гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции.
2.Специфическую профилактику гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции.
3.Биологические свойства и лабораторную диагностику герпеса

Студент должен уметь:

1.Поставить и учесть результаты реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции.
2.Поставить и учесть результаты РПГА при гепатите В.
3.Поставить и учесть результаты РТГА и ИФА для серодиагностики при Герпесе.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции, герпеса
   Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
2. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции, герпеса.
3. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,G,ВИЧ- инфекции,герпеса.
4. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики (демонстрация).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°С инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°С около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°С в течение 60 минут, прогревании при 60°С в течение 10 часов.

Механизм передачи инфекции — парентеральный. Заражение происходит естественным (половой, вертикальный, бытовой) и искусственным (парентеральным) путями. Вирус присутствует в крови и различных биологических жидкостях — слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, менструальной крови и др. Контагиозность (заразность) вируса гепатита В превышает контагиозность ВИЧ в 100 раз.

Наибольшее значение раньше повсеместно имел именно парентеральный путь — заражение при лечебно-диагностических манипуляциях, сопровождающихся нарушением целостности кожного или слизистого покрова через медицинский, стоматологический, маникюрный и прочий инструментарий, трансфузии крови и её препаратов.

Патогенез. Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего

детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.

Инкубационный период (время с момента заражения до появления симптомов) гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идет скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности. Некоторые исследователи полагают, что бессимптомное течение, безжелтушная форма и «желтушный» гепатит составляют равные по количеству пораженных лиц группы. То есть выявленные диагностированные случаи острого гепатита В составляют только одну треть всех случаев острого гепатита.

Вакцинация. Обязательная вакцинация. С недавнего времени вакцинация против гепатита В была включена в обязательный календарь прививок. Новорожденные наиболее чувствительны к вирусу гепатита В – в случае инфицирования в этом возрасте, риск приобретения хронической формы гепатита В составляет 100%. В то же время иммунитет, создаваемый вакциной в этот период жизни, наиболее стойкий. Рекомендовано прививать новорожденного еще в родильном доме, затем через 1 месяц после первой прививки, и через 6 месяцев после первой прививки (так называемая схема 0-1-6). При пропуске очередной инъекции следует помнить о допустимых интервалах - 0-1(4)-6(4-18) месяцев. Однако если были пропущены допустимые интервалы, необходимо продолжать вакцинацию по схеме, как если бы пропуска не было. Если вакцинация проведена по стандартной схеме, повторная вакцинация обычно не требуется, поскольку иммунитет сохраняется по меньшей мере в течение 15 лет. Для определения, насколько долго сохраняется иммунитет в течение жизни, необходимы дальнейшие исследования – ведь вакцинация начала применяться относительно недавно. Только после проведения всего курса вакцинации, достигается почти 100%-ый иммунитет. Около 5% общей популяции не отвечает на вакцинацию, в этих случаях следует использовать другие виды вакцин против гепатита В.

Лабораторная диагностика ГВ - основана на выявлении специфических для ГВ антигенов и соответствующих антител в крови, а также вирусных нуклеиновых кислот, основными из которых являются:

HB sAg - анти-HB s
анти-HBc класса Ig M и IgG
HBe Ag - анти-HBe
ДНК ВГВ

Наиболее широко в диагностике ГВ используется определение HBsAg. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании (однако острая инфекция обычно подтверждается наличием высоких титров анти-HBc IgM). При остром ГВ поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистирование HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса. Элиминация HBsAg и появление антител к нему является непременным условием выздоровления. Серологическими маркерами репликации ВГВ являются - анти-HBc класса IgM, HBeAg, ДНК и ДНК-полимераза, которые обнаруживаются при остром ГВ с первых дней клинических проявлений и могут обнаруживаться при обострении хронического ГВ. Серологические маркеры репликации ВГВ определяют как в целях общей диагностики, так и для оценки эффективности применяемой терапии.

Вирус гепатита Д (HДV) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. HДV представляет собой сферическую частицу, в центре которой находится сферический антиген (НД-Ag), содержащий РНК. Наружная

оболочка частицы образована поверхностным антигеном вируса гепатита В - HBs антигеном (HBsAg). НДV не может существовать без репликации НВ- вируса, поэтому его называют вирусом - паразитом, или дефектным вирусом. Вирус гепатита В выполняет при этом хелперную функцию, то есть роль помощника для размножения НДV. Поэтому НДV - инфекция протекает всегда вместе с HBV- инфекцией. НДV располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. НДV- инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции НДV в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к НДV выделяются в различных регионах у 2-7 % больных, а при хронических гепатитах - у 9-50 % больных. На территории бывшего СССР среди "здоровых" носителей HBsAg наибольшая частота (10-20 %) обнаружения антител к НДV выявлена в Молдове, Казахстане, Средней Азии, Туве, то есть в районах, гиперэндемичных по ВГВ. В европейской части России частота выявления антител к НДV составляет 1,2-5,5 %.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим ВГД, вирусоносители, а также носители антиНДV, так как известно, что у лиц с антиНДV одновременно можно обнаружить РНК- НДV. Передача НДV происходит так же, как и при ВГВ (парентеральным, половым путем, от матери плоду). К дельта -инфекции восприимчивы лица, не болевшие ВГВ (тоесть не имеющие антиHBs), а также носители НВ- вируса (здоровые носители HBsAg и больные хроническим ВГВ). Дельта- инфекция возникает как спорадически, так и в виде вспышек.

Патогенез, клиника. Инфекционный процесс, обусловленный НДV, проявляется прежде всего появлением НД-Ag в крови. Дельта -антигемия может быть кратковременной или продолжительной в зависимости от того, как происходило инфицирование и имеется ли интегрирование НВ- вируса в геном гепатоцита. Различают острое, затяжное и хроническое течение дельта- инфекции. Характер ее течения лимитируется продолжительностью HBs-антигенемии: по мере ее истощения прекращается и синтез НДV, и завершается дельта-зависимый патологический процесс.

Дельта- инфекция развивается в виде коинфекции или суперинфекции. При коинфекции происходит одновременное заражение HBV + НДV у лиц, не болевших ранее HBV - инфекцией (не имеющих до инфицирования маркеров HBV - инфекции). В этом случае развивается острый ВГВ+ВГД- гепатит с появлением серологических маркеров сразу двух острых инфекций. При коиинфекции репликация HBV чаще всего ВГВ+ВГД - гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции НДV - инфекция наслаивается на текущую HBV- инфекцию у здоровых носителей HBsAg, у реконвалесцентов основного ВГВ, у больных хроническим ВГВ. При этом развивается клиника острого вирусного гепатита дельта, сопровождающегося появлением антител к дельта- антигену.

Лабораторная диагностика гепатита Д (ГД) Вирус гепатита Д (ВГД) – это дефектный вирус, содержащий одно-спиральную РНК, которому для репликации необходимо помощь вируса ГВ для синтеза оболочечных белков, состоящих из HBsAg, который используется для инкапсуляции генома ВГД. ВГД не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов животных, по своим свойствам ВГД наиболее близок к вироидам и сателлитным вирусам растений. Лабораторная диагностика осуществляется путем обнаружения серологических маркеров ВГД, включая наличие антигена, антител к нему и РНК ВГД. Обнаружение антигена ВГД и РНК ВГД в сыворотке крови или ткани печени свидетельствует о наличии активной ГД-инфекции, однако, следует отметить, что эти маркеры могут не обнаруживаться в сыворотке больных фульминантным ГД. Маркером активной репликации ВГД также является анти-ВГД класса IgM. Серологические маркеры инфекции ГД зависят от того, как был приобретен вирус – в виде коинфекции с ВГВ (у большинства больных заболевание имеет острое течение и заканчивается выздоровлением) или суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией (протекает тяжелее, чем

коинфекция - в 10% развивается фульминантный гепатит). При суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией серологическая картина имеет следующие характерные особенности: – титр HBsAg снижается к моменту появления антигена ВГД в сыворотке; - антиген ВГД и РНК-ВГД продолжают определяться в сыворотке, так как обычно у большинства пациентов с суперинфекцией ГД (70-80%) развивается хроническая инфекция, в отличие от случаев коинфекции; - определяются высокие титры антител (анти-ВГД) как класса IgM, так и IgG, которые сохраняются неопределенное время. Серологические маркеры вируса ГД определяют методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа, а РНК-ВГД - методом полимеразной цепной реакции.

Гепатит С — антропонозное вирусное заболевание с парентеральным механизмом заражения, наиболее часто протекающее в виде посттрансфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и склонное к хронизации.

Гепатит С называют «ласковым убийцей» из-за способности маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний.

Парентеральный вирусный гепатит С вызывается РНК-содержащим вирусом с размером вириона 30-60 нм, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирусные частицы HCV имеют оболочку, содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам вируса гепатита С. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и анти-HCV антителами, имеют диаметр 60-70 нм. При электронно-микроскопическом изучении на поверхности вириона выявлены хорошо выраженные выступы высотой 6-8 нм.

Источником инфекции являются больные с активным гепатитом С и латентные больные — носители вируса. HCV-инфекция является инфекцией с парентеральным механизмом заражения — через инфицированную кровь и её компоненты. Инфицирование возможно при парентеральных манипуляциях, в том числе в медицинских учреждениях, включая оказание стоматологических услуг, через инъекционное оборудование, при акупунктуре, пирсинге, нанесении татуировок, при оказании ряда услуг в парикмахерских, однако при половых контактах вероятность заболеть гепатитом С гораздо меньше, чем гепатитом В, и сводится к минимальным показателям.

Лабораторная диагностика гепатита С (ГС). Лабораторная диагностика ГС была решена при помощи современных методов молекулярной биологии, учитывая, что при ГС вирус находится в крайне низкой концентрации и его антигены не доступны выявлению с помощью современных методов индикации, усилия исследователей сосредоточены на выявлении антител к различным антигенным компонентам вируса, обнаружение которых может служить индикатором наличия вируса. В качестве антигенов использовали белки, кодированные структурной и неструктурной зоной РНК-ВГС, полученные при помощи рекомбинантной технологиии или синтеза (полипептиды, используемые в современных иммунологических методах – С22-3; С33с, С100-3, С200, NS5, S-1-1). Лабораторная диагностика ГС основывается на обнаружении серологических маркерв ВГС: антител к вирусу ГС (анти-ВГС, анти-ВГС класса IgM, IgG) методом ИФА и РНК-ВГС методом ПЦР. К настоящему времени разработаны 4 поколения тест-систем для выявления анти-ВГС в иммуноферментном методе, но ИФА первого поколения сейчас не используется из-за низкой чувствительности. РНК-ВГС является показателем активной репликации ВГС и самым ранним маркером инфекции, и может быть обнаружена методом полимеразной цепной реакции уже через 1- 2 недели после инфицирования, незадолго до повышения уровня сывороточных трансаминаз. Анти-ВГС обнаруживаются к 5-6 неделе после начала гепатита в 80% случаев и к 12 неделе у 90% лиц методом иммуноферментного анализа. При определении анти-ВГС в некоторых случаях регистрируется ложноположительная реакция. Для разграничения ложноположительных образцов от образцов действительно содержащих антитела к ВГС, разработаны дополнительные тесты – рекомбинантный иммуноблотинг, определение спектра белков анти-ВГС.

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека, вызывающий заболевание — ВИЧ-инфекцию, последняя стадия которой известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) — в отличие от врождённого иммунодефицита.

Распространение ВИЧ-инфекции связано, главным образом, с незащищенными половыми контактами, использованием зараженных вирусом шприцев, игл и других медицинских и парамедицинских инструментов, передачей вируса от инфицированной матери ребенку во время родов или при грудном вскармливании. В развитых странах обязательная проверка донорской крови в значительной степени сократила возможность передачи вируса при её использовании.

ВИЧ заражает прежде всего клетки иммунной системы (CD4+ Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки), а также некоторые другие типы клеток. Инфицированные ВИЧ CD4+ Т-лимфоциты постепенно гибнут.

Вирус иммунодефицита человека относят к семейству ретровирусов (Retroviridae), роду лентивирусов (Lentivirus). Название Lentivirus происходит от латинского слова lente — медленный. Такое название отражает одну из особенностей вирусов этой группы, а именно — медленную и неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме. Для лентивирусов также характерен длительный инкубационный период.

Диагностика. Течение ВИЧ-инфекции характеризуется длительным отсутствием существенных симптомов болезни[81]. Диагноз ВИЧ-инфекции ставится на основании лабораторных данных: при выявлении в крови антител к ВИЧ. Антитела к ВИЧ в период острой фазы, как правило, не обнаруживают. В первые 3 мес. после заражения антитела к ВИЧ выявляются у 96-97 % пациентов, через 6 мес. — у остальных 2-3 %, а в более поздние сроки — только у 0,5-1 % (источник Centers for Disease Control and Prevention USA, 2009г). В стадии СПИД регистрируют существенное снижение содержания антител в крови. Первые недели после инфицирования представляют собой «период серонегативного окна», когда антитела к ВИЧ не выявляются. Поэтому отрицательный результат тестирования на ВИЧ в этот период не означает, что человек не инфицирован ВИЧ и не может заразить других.

Для диагностики поражения слизистой оболочки рта у ВИЧ-инфицированных больных принята рабочая классификация, утверждённая в Лондоне, в сентябре 1992 года. Все поражения разделены на 3 группы:

1 группа — поражения, чётко связанные с ВИЧ-инфекцией. В эту группу включены следующие нозологические формы:

кандидозы (эритематозный, псевдомембранозный, гиперпластический, атрофический);
волосистая лейкоплакия;
маргинальный гингивит;
язвенно-некротический гингивит;
деструктивный пародонтит;
саркома Капоши;
неходжкинская лимфома.

2 группа — поражения, менее чётко связанные с ВИЧ-инфекцией:

бактериальные инфекции;
болезни слюнных желёз;
вирусные инфекции;
тромбоцитопеническая пурпура.

3 группа — поражения, которые могут быть при ВИЧ-инфекции, но не связанные с нею.

Герпес (греч. ἕρπης — ползучая, распространяющаяся кожная болезнь) — вирусное заболевание с характерным высыпанием сгруппированных пузырьков на коже и слизистых оболочках.

Простой герпес (Herpes simplex) — группа скученных пузырьков с прозрачным содержимым на воспалённом основании. Герпесу предшествует зуд, жжение кожи, иногда озноб, недомогание.

Опоясывающий лишай (Herpes zoster) — характеризуется болью по ходу нерва,

головной болью. Через несколько дней на участке кожи по ходу нерва появляются высыпания в виде сгруппированных пузырьков сначала с прозрачным, а позже гнойным кровянистым содержимым. Увеличиваются лимфатические узлы, повышается температура тела, нарушается общее состояние. Невралгические боли могут держаться до нескольких месяцев.

Патогенез. Вирус герпеса передается непосредственным контактным путем, а также посредством предметов обихода. Возможна также передача инфекции воздушно-капельным путем. Герпес проникает через слизистые оболочки полости рта, верхних дыхательных путей и половых органов. Преодолев тканевые барьеры, вирус попадает в кровь и лимфу. Затем попадает в различные внутренние органы.

Вирус проникает в чувствительные нервные окончания и встраивается в генетический аппарат нервных клеток. После этого удалить вирус из организма невозможно, он останется с человеком на всю жизнь. Иммунная система реагирует на проникновение герпеса выработкой специфических антител, блокирующих циркулирующие в крови вирусные частицы. Характерно пробуждение инфекции в холодное время года, при простудных заболеваниях, при гиповитаминозе. Размножение герпеса в клетках эпителия кожи и слизистых оболочек приводит к развитию дистрофии и гибели клеток.

Согласно исследованиям учёных Колумбийского университета, герпес является стимулирующим фактором для развития болезни Альцгеймера. Позднее эти данные были независимо подтверждены исследователями из Манчестерского университета. Ранее та же группа исследователей под руководством Рут Ицхаки доказала, что вирус простого герпеса обнаруживается в мозге почти 70 % пациентов с болезнью Альцгеймера. Кроме того, они подтвердили, что при инфицировании вирусом культуры клеток мозга происходит значительное увеличение уровня бета-амилоида, из которого и формируются бляшки. В ходе последнего исследования ученые смогли выяснить, что 90 % бляшек в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера содержат ДНК простого герпеса — ВПГ-1.

Для диагностики герпетической инфекции используются все лабораторные реакции — от цитологических исследований до молекулярно-биологических методов.

Материалом для выделения вируса с целью диагностики герпетической инфекции может служить содержимое герпетических пузырьков, соскобы с роговой оболочки и жидкости из передней камеры глаза, кровь, слюна, моча, спинномозговая жидкость фекалии кусочки ткани мозга, печени, почек, селезенки, легких лимфатические узлы, взятые на био- или аутопсии.

Инфекционный материал можно длительно хранить при -70°С, тогда как при температуре -20°С он быстро инактивируется. Вируссодержащие ткани могут быть сохранены более 6 месяцев при 4°С, если они находятся в 50% растворе глицерина.

Существует целый ряд специальных методов для выявления вирусных антигенов, специфических антител и вирусиндуцированных морфологически измененных клеток.

Наиболее доступным и технически несложным является цитологический метод, позволяющий изучить морфологические изменения в клетках, инфицированных вирусом простого герпеса. Эффективность метода зависит от получения достаточного количества клеток для исследования. Наличие внутриядерных включений, характерных для репродукции вируса герпеса, служит подтверждением диагноза. Следует помнить, что внутриядерные включения обнаруживаются только после немедленной фиксации мазков соскоба в абсолютном спирте с последующей окраской по Романовскому-Гимзе. Морфологические изменения, индуцируемые вирусом простого герпеса, можно также обнаружить в срезах тканей инфицированных органов. Характерным для герпетической инфекции является: наличие многоядерных клеток, внутриядерных включений и в некоторых случаях геморрагии. При генерализованной форме заболевания многоядерные клетки с эозинофильными включениями находят в зонах некротизированных тканей различных органов (мозг, печень, почки, надпочечники, эпителий бронхов и трахеи).

Метод иммунофлуоресценции — является методом экспресс-диагностики

герпетической инфекции и позволяет в течение 1-2 часов определять наличие герпесвирусных антигенов в клиническом материале (соскоб с кожи и слизистых оболочек, срезы биопсированных органов). Идентификация антигенов вируса простого герпеса может быть выполнена в различных модификациях метода иммунофлуоресценции — прямой, непрямой, с применением меченного комплемента.

Из серологических методов идентификации наиболее часто используют реакцию связывания комплемента (РСК), особенно в микромодификации ее постановки. Микрометоды используют и для выявления вируса простого герпеса в реакциях нейтрализации, пассивной гемаглютинации и в других серологических тестах. Чувствительность перечисленных методик различна.

В настоящее время одним из наиболее чувствительных методов диагностики герпетической инфекции является метод иммуноферментного анализа (ИФА), позволяющий обнаруживать, в зависимости от вида биологического материала, как вирусспецифические антигены, так и вирусспецифические антитела класса IgM, IgG.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1.ВИЧ относится к группе вирусов:
- а) ДНК-геномных;
- б) РНК-геномных;
- в) сложных.

2. Семейство ретровирусов отличается наличием
- а) РНК-полимеразы
- б) ДНК-полимсразы
- в) эндонуклеазы
- г) обратной транскриптазы
- д) экзонуклеазы

3. Какой тип нуклеиновой кислоты содержит вирус гепатита В?
- а) РНК
- б) ДНК
- в) ДНК и РНК

4.В патогенезе СПИДа важное место занимает:
- а) трансформация PrP^{c}-белков в PrP^{sc}-белки;
- б) безудержная пролиферация В-лимфоцитов;
- в) накопление патологических миеломных белков;
- г) поражение Т-хелперов и макрофагов.

5. В патогенезе вирусных болезней решающую роль играет:
- а) вирулентность вируса;
- б) токсигенность вируса;
- г) уровень лизоцима;
- д) реакция организма на клетки, пораженные вирусом.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ№17

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ:
«ВИРУСЫ -ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА».

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ ДЛЯ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

ВЕСЕННИЙ СЕМЕСТР

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в весеннем семестре. Указания составлены в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом Высшего и профессионального образования.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:
Л.В. Бибаева -д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.
А.Р. Кусова-д.м.н., профессор зав. кафедрой общей гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Методические рекомендации утверждены на заседании ЦКУМС ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России от 22.03.2022г., протокол № 4

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №1.

Тема: Морфология микробов. Микроскопический метод исследования.

Учебная цель:

1. Изучить морфологию отдельных представителей бактерий.
2. Освоить технику микроскопирования.
3. Освоить простой метод окраски микроорганизмов.

План занятия:

1. Знакомство с правилами работы и основами техники безопасности в микробиологической лаборатории.
2. Устройство и оборудование микробиологической лаборатории, режим работы и назначение.
3. Классификация бактерий.
4. Морфология бактерий, методы изучения (световая, темнопольная, фазовоконтрастная, электронная микроскопия).
5. Этапы приготовления мазка.
6. Простой метод окраски бактерий.
7. Приготовление мазков из культуры стафилококка и кишечной палочки, окраска простым методом.
8. Демонстрация препаратов из микрококков, диплококков, тетракокков, сарцин, стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, бацилл, вибрионов.

Самостоятельная работа студентов

3. Приготовление мазка и окраска простым методом (под руководством преподавателя).
4. Освоение техники микроскопирования. Микроскопическое изучение морфологии бактерий:
6. Просмотр демонстрационного мазка из чистой культуры стафилоккока (Staphylococcus aureus). Окраска генциан-виолетом.
7. Просмотр демонстрационного мазка из чистой культуры кишечной палочки (E. coli). Окраска — водным фуксином.
8. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром -8щт.
2. Набор красок:
   Метиленовый синий – 8 шт.
   Водный фуксин – 8 шт.
3. Пробирки с ростом культур S.aureus -8 шт.
   Пробирки с ростом культур E.coli – 8 шт.

4. Микроскопы – 8 шт.
   Иммерсионное масло – 4 шт.
5. Демонстрационные микропрепараты: сарцины, стрептококки, диплококки, кишечная палочка, актиномицеты, стафилококки, спирохеты, вибрионы, антракоид.
6. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

4. Техника приготовления мазков.

Мазки готовят на обезжиренных предметных стеклах, предварительно обрисовав карандашом по стеклу место будущего мазка с противоположной стороны предметного стекла. При росте бактерий на жидкой питательной среде, материал берут стерильной бактериальной петлей, наносят на стекло и растирают над очерченной площадкой. В случае роста бактерий на плотной питательной среде, на предметное стекло предварительно наносят петлей каплю воды и материал растирают.

5. Бактериальную петлю перед использованием с оставшейся культурой стерилизуют в пламени горелки. Приготовленный мазок высушивают на воздухе или держа высоко над пламенем спиртовки.

6. После этого препарат фиксируют, для чего мазок стороной, где нет материала, троекратно проводят через середину пламени горелки. Фиксация позволяет убить микробы, прикрепить их к стеклу и, наконец, убитые микробы окрашиваются лучше, чем живые.

2. Техника простых методов окраски

Окраска бактерий преследует цель сделать их резко отличными от фона, что позволяет изучить под микроскопом их морфологию и структуру. В микробиологии используют простые и сложные методы окраски препаратов.

При ПРОСТОМ СПОСОБЕ окраски, мазок окрашивают каким-либо одним красителем, например, водным фуксином (2-3 мин.) или метиленовой синью (2-3 мин.), промывают водой, высушивают и микроскопируют.

3. Техника микроскопирования

В связи с очень малыми размерами бактерий изучение их морфологии возможно только при большом увеличении, достигаемом при помощи иммерсионного масла, которое позволяет создать единую систему между предметным стеклом и особым, х 90- кратным (с черной полоской) объективом.

При микроскопии окрашенных объектов необходимо создать яркое освещение с помощью вогнутого зеркала, поднятого конденсора и полностью открытой диафрагмы.

Каплю иммерсионного масла наносят на область мазка на стекле, лежащем на столе. Затем стекло переносят на столик микроскопа. Иммерсионный объектив погружают в масло осторожно, под контролем глаза до явного контакта объектива с маслом. Затем объектив поднимают, не выводя из капли масла и глядя в окуляр для нахождения объекта исследования («поля зрения»). Четкое изображение препарата достигается регулировкой сначала макровинтом (для обнаружения объекта), а затем микровинтом для регулировки резкости изображения.

Морфология основных форм бактерий

Известны четыре основные формы бактерий:

7. **Кокки**- микробы округлой формы, имеющие в диаметре 1-2ц. Они отличаются между собой по взаимному расположению отдельных клеток, которое зависит от способа их деления. Если по окончании деления кокки разъединяются на отдельные шарики, получаются одиночные клетки кокков -Micrococcus.

8. Группа из двух кокков носит название диплококка -Diplococcus (менингококк, гонококк имеют сходство с бобами, и ланцетовидную форму — пневмококк).

9. Если деление кокков происходит лишь в одном направлении и образующиеся кокки не разъединяются, то получается нить из шариков в виде цепи, более или менее длинной в зависимости от числа кокков- Streptcoccus.

10. При делении в двух взаимно перпендикулярых направлениях возникают сочетания по четыре кокка-Tetracoccus.

11. Если деление происходит в трех взаимно перпендикулярных направлениях, кокки соединяются в виде пакетов (кубиков) и получают название — Sarcina.

12. Делясь в различных направлениях без особой правильности, кокки образуют беспорядочные скопления клеток, напоминающие виноградные грозди, почему они и получили название Staphylococcus.

Палочковидные микроорганизмы представлены самой многочисленной и разнообразной группой бактерий. В классификации палочковидных форм принято именовать бациллами и клостридиями те палочки, которые способны образовывать споры, а палочки неспособные к спорообразованию, называются бактериями. Палочковидные формы различаются по величине, расположению — поодиночке, парами, цепочкой, беспорядочно и под углом. Очертанию концов — закругленные, обрубленные, утолщенные, заостренные.

Извитые формы-спириллы и спирохеты имеющие вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относятся возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). К извитым также относятся кампилобактерии, имеющие изгибы как у крыла летящей чайки.

Спирохеты — тонкие, длинные, изогнутые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Спирохеты представлены тремя родами патогенными для человека: Treponema, Borrelia, Leptospira.

Методы диагностики инфекционных заболеваний

3. *Микроскопический метод* заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, электронная). В бактериологии микроскопический метод получил название бактериоскопический, в вирусологии — вирусоскопический.

4. *Культуральный метод* заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название бактериологического, а в вирусологии – вирусологического.

6. *Биологический метод* (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, определение активности антимикробных химиотерапевтических препаратов.

7. *Серологический метод* — заключается в определении титра антител в сыворотке крови больного, реже — в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале. С этой целью используются реакции иммунитета.

8. *Аллергический метод* заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат — аллерген. С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответственными аллергенами.

Объект изучения медицинских микробиологических лабораторий — патогенные биологические агенты — патогенные для человека микроорганизмы (вирусы, бактерии, грибы, простейшие). В соответствии с типами микроорганизмов выделяют: бактериологические, вирусологические, микологические, протозоологические лаборатории. Регламентация условий работы с возбудителями инфекционных заболеваний произведена в

соответствии со степенью опасности микроорганизмов для человека. Выделяют четыре группы возбудителей.

Группа 1: возбудители особо опасных инфекций: чума, натуральная оспа, лихорадки Ласса, Эбола.

Группа 2:возбудители высококонтагиозных бактериальных грибковых и вирусных инфекций: сибирская язва, холера, лихорадка, сыпной тиф, бешенство.

Группа 3: возбудители бактериальных грибковых, вирусных и протозойных нозологических форм (коклюш, малярия, полиомиелит, лейшманиозы).

Группа 4: возбудители бактериальных, вирусных, грибковых заболеваний (синегнойной инфекции, амебиаза, аспергиллеза).

Микробиологические лаборатории работают с ПБА с возбудителями особо опасных инфекций (группа 1и 2). Особый режим максимально изолированные индивидуальным и общественным риском.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №2.

Тема: Морфология микробов. Микроскопический метод исследования. Контрольное занятие.

Учебная цель:

1. Изучить отдельные структуры прокариотической клетки.
2. Освоить сложные методы окраски микробов.

План занятия:

1.Строение и химический состав бактериальной клетки.
2.Особенности строения бактериальной клетки.
3.Сложные методы окраски, цели их использования (методы Грама, Циля-Нельсена, Ожешко, Гинса-Бурри, Нейссера).
4.Демонстрация окрашенных препаратов по методам Грама, Бурри-Гинса, Нейссера, Ожешко, Цилю-Нильсену.
5.Изучение подвижности бактерий, приготовление препаратов «висячая» и «раздавленная» капля.

Самостоятельная работа студентов

1. Приготовить смешанный мазок из чистых культур стафилококка и кишечной палочки. Окраска водным фуксином.
2. Приготовить смешанный мазок из чистой культуры стафилококка и кишечной палочки. Окраска по Граму.
3. Приготовить препараты «висячая» и «раздавленная» капля.
4. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром -8щт.
2. Набор красок:
   По Граму: генциановый фиолетовый, р-р Люголя, водный фуксин,этиловый спирт- 2 набора.
   По Цилью Нильсену: фуксин Циля, метиленовый синий, 5% серная кислота – 2 набора.
   По Ожешко: 1,5% соляная кислота, фуксин Циля, метиленовый синий, 5% серная кислота – 2 набора.
   По Нейссеру: синька Нейссера, р-р Люголя, везувин. – 2 набора.
   По Бурри-Гинсу: Тушь, водный фуксин, стекла с отшлифованными краями – 2 набора.

3. Для определения подвижности предметные стекла с луночками и покповные стекла. – 4 шт., вазелин – 4 шт.
4. Пробирки с ростом культур S.aureus -2 шт.
   Пробирки с ростом культур E.coli – 2 шт.
   Мазки из вакцины БЦЖ, для окраски по Цилью Нильсену – 2 шт.
   Культура спорообразующих бактерий на скошенном агаре, для окраски по Ожешко – 2 шт.
   Культура капсульных бактерий на косом агаре, для окраски по Бурри-Гинсу – 2 шт.
   Культура дифтероидов на скошенном агаре, для окраски по Нейссеру – 2 шт.
   Культура подвижных бактерий на бульоне – 4шт.
5. Микроскопы – 8 шт.
   Иммерсионное масло – 4 шт.
6. Демонстрационные микропрепараты: мазки из мокроты окрашенные по Цилью – Нильсену, мазки капсульных бактерий, окрашенные по Бурри-Гинсу, мазки дифтерийной палочки, окрашенные по Нейссеру, мазки из антракоида, окрашенные по Ожешко, мазки из культур кишечной палочки и стафилококка, окрашенные по Граму.
7. Демонстрация подвижности бактерий в темном поле.
8. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Техника сложных методов окраски

Сложные способы окраски включают последовательное нанесение на препарат красителей, различающихся по химическому составу и цвету, протрав и дифференцирующих веществ. Это позволяет предварительно дифференцировать микробы *(дифференциально-диагностические способы)* и выявлять определенные структуры клеток *(специальные способы)*.

1. Способ окраски по Граму

Окраска по Граму является важным диагностическим признаком идентификации бактерий. В результате окраски по Граму все бактерии делятся на две группы; грам-положительные (синего цвета) и грам-отрицательные (красного цвета).

Техника окраски по методу Грама

1.Фиксированный мазок кладут на бактериологический мостик и покрывают полоской фильтровальной бумаги, пропитанной раствором генциан -виолета на бумажную полоску наносят воду. Через 2 минуты полоску удаляют.

2. Не промывая препарат водой, наносят раствор Люголя на 1 минуту. Затем раствор сливают.

3. Препарат обесцвечивают спиртом 20-30 секунд (до отхождения фиолетовых струек краски).

4. Препарат промывают водой.

5. Окрашивают водным фуксином — 2 минуты.

6. Препарат промывают водой.

7. Высушивают на воздухе или фильтровальной бумагой.

2. Способ окраски по Цилю-Нельсену

Применяется для обнаружения некоторых микробов, богатых липидам (например, возбудитель туберкулеза, лепры и др.)

1. Для окрашивания используют концентрированный раствор карболового фуксина Циля. С целью улучшения проникновения красителя в клетку препарат с наложенной на него

полоской фильтровальной бумаги и красителем подогревают над пламенем горелки троекратно до появления пара.
2. Затем препарат обесцвечивают 5% раствором серной кислоты, предварительно удалив фильтровальную бумагу.
3. Промывают водой.
4. Докрашивают метиленовым синим в течении 3-5минут.
5. Препарат промывают водой.
6. Высушивают на воздухе или фильтровальной бумагой.

Обесцвечивание кислотой приводит к потере красителя кислотоподатливыми микробами, и они окрашиваются в синий цвет. Кислотоустойчивые микробы остаются красными.

3.Способ окраски по Бурри-Гинсу
1. Смешивают каплю культуры капсульных бактерий с каплей туши на конце предметного стекла. Затем готовят мазок как обычно его готовят из капли крови.
2. Мазок высушивают на воздухе и фиксируют в пламени горелки.
3. Для обнаружения бактерий мазок окрашивают водным фуксином.

При этом способе окраски бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются как ободок на черно-коричневом фоне вокруг бактерий.

4.Способ окраски по методу Нейссера
1. На фиксированный мазок наносят синьку Нейссера2-3 мин.
2. Не промывая водой, наносят раствор Люголя 10-30сек.
3. Мазок промывают водой.
4. Докрашивают раствором везувина — 1 мин.

В культуре дрожжеподобных грибов много зерен волютина. Они представляют собой соединения, имеющие, в отличие от цитоплазмы, щелочную реакцию и потому окрашиваются в темно-синий цвет. Цитоплазма клетки, обладающая кислой реакцией, воспринимает щелочной краситель везувин и окрашивается в желтый цвет.

5.Способ окраски по методу Ожешко
1. На нефиксированный мазок наносят 0,5% раствор HCI и подогревают на пламени горелки в течение 2 мин. До появления паров.
2. Препарат промывают водой, высушивают и фиксируют.
3. Докрашивают по методу Циля-Нельсена.

Споры бактерий после данной окраски приобретают красный цвет, а тело бактерий-синий.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ№3

Тема: Влияние физических факторов окружающей среды на жизнедеятельность микробов.

Учебная цель:

1.Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
2.Изучить методы контроля эффективности стерилизации.

План занятия:

9. Методы стерилизации: физические, химические, биологические, механические.
10. Устройство и применение печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
11. Стерилизация различных лекарственных средств в зависимости от их природы, формы, лабильности к физическим фактором.
12. Контроль качества стерилизации.
13. Понятие об асептике, антисептике и дезинфекции.
14. Антисептики и дезинфектанты.
15. Принципы контролирования качества дезинфекции.
16. Демонстрация антисептических и дезинфицирующих средств.

Самостоятельная работа студентов:

1. Провести и учесть результаты опыта по определению действия высокой температуры (80°С) на спорообразующие (антракоид) и аспорогенные (кишечная палочка и стафилококк) микроорганизмы.

- Заполнить протокол по форме:

Учет роста культуры	Стафилококк	Кишечная палочка	Антракоид
до прогревания			
после прогревания			

Вегетативные формы патогенных микроорганизмов погибают при 50-60^{0}С в течении 30 минут, а при температуре 70^0 С в течении 5-10 минут. Споры бактерий обладают большей устойчивостью к высоким температурам, что объясняется содержанием в них воды в связанном состоянии, большим содержанием солей кальция, липидов и плотностью, многослойностью оболочки. Следовательно, стафилококк и кишечная палочка после прогревания погибают, а споры антракоида выживают. Это и надо учитывать в оценке результатов посева.

- Заполнить самостоятельно таблицу:

№	Способ стерилизации	Аппарат	Надёжность	Стерилизуемый материал
1.	Стерилизация в пламени			
2.	Плазменная			

	Стерилизация			
3.	Сухой жар			
4.	Паром под давлением			
5.	Текучим паром			
6.	Тиндализация			
7.	Фильтрование			
8.	Физические факторы (УФЛ, гамма-лучи, ультразвук)			
9.	Газовая стерилизация			
10.	Пастеризация			

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для микробиологического исследования:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром – 8шт.
2. **Для опыта:**
   Пробирка с взвесью кишечной палочки – 2шт.
   Пробирка с взвесью стафилококка- 2шт.
   Пробирка с взвесью антракоида- 2 шт.
   Водяная баня -1 шт.
   Стерильные скошенные агары -12 шт.
3. Демонстрация: печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
4. Демонстрация антисептических и дезинфицирующих средств.
5. **Таблицы.**

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

СТЕРИЛИЗАЦИЯ

Стерилизация-это обеспложивание, т. е. полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

Стерилизацию производят различными способами:

5. Физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, повышенного давления, пара, гамма-лучей, ультразвука).

6. Химическими (использование различных дезин-фектантов, антисептиков).

7. Биологическим (применение антибиотиков).

8. Механическими (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использование того или иного способа стерилизации обусловлена особенностями материала, подлежащего стерилизации, его физическими и химическими свойствами.

К *физическим* способам стерилизации можно отнести прокаливание в пламене, стерилизацию сухим жаром в печи Пастера, кипячение, стерилизацию текучим паром в аппарате Коха, паром под давлением в автоклаве, тинда-лизацию, пастеризацию, стерилизацию УФЛ, ультразвуком.

Механическая стерилизация осуществляется фильтрованием с помощью бактериальных фильтров, изготовленных из различных мелкопористых материалов, поры фильтров должны быть достаточно мелкими, чтобы обеспечить механическую задержку бактерий. Этим методом стерилизуют питательные среды, содержащие белок, сыворотки, антибиотики; отделяют бактерии от вирусов, фагов, экзотоксинов.

В микробиологической практике используют асбестовые фильтры Зейтца, мембранные фильтры (свечи) Шамберлана и Беркефельда.

а) *фильтры Зейтца* — диски из смеси асбеста с целлюлозой, толщина их 3-5мм, диаметр 35-140мм;

б) *мембранные* фильтры -из нитроцеллюлозы, толщиной 0,1 мм и диаметром 35мм. В зависимости от размера пор обозначают 1,2,3,4,5;

в) *свечи Шамберлана и Беркефельда* — полые цилиндры, закрытые с одного конца, готовят их из каолина с примесью песка и кварца.

Химические способы стерилизации применяют ограниченно, но они служат для предупреждения бактериального загрязнения питательных сред и иммунобиологических препаратов (вакцин и сывороток).

Биологическая стерилизация основана на применении антибиотиков, иногда фагов.

Дезинфекция — использование химических веществ (фенол, лизол, хлорамин, перекись водорода, сулема, спирт, и т. д.) для уничтожения патогенных бактерий в отработанном патологическом материале.

Систематизация приборов, процессов обработки и средств для дезинфекции и стерилизации

Классификация инструментов	**Основные типы инструментов**	**Характер обработки и виды воздействий**
Критические - проникают в стерильные ткани или сосуды	Все инвазивные хирургические инструменты, имеющие контакт с кровоснабжаемыми тканями, скальпели, иглы шприцов, импланта-ты, боры, корневые иглы, экскаваторы, зонды, гладилки.	**Стерилизация** - вирули-цидные, спороцидные, ту-беркулоцидные, бактерицидные воздействия. **Длительная экспозиция:** гамма-лучи, плазма, длительная газовая и химическая стерилизация, автоклавиро-вание (2 атм. 15 мин), сухой жар (максим. режим, 2 часа)
Полукритические - соприкасаются со слизистыми оболочками (за исключением ряда стоматологических инструментов, перечисленных выше)	Гибкие эндоскопы, катетеры, инструменты аналогичные гибким эндоскопам, зеркала, коронки, наконечники турбин, а также оттиски (слепки) зубов.	**Дезинфекция высокого уровня** - вирулицидные, спороцидные, туберкуло-цидные, бактерицидные воздействия. **Кратковременная экспозиция:** гамма-лучи, плазма, кратковременная газовая и химическая стерилизация, автоклавирование (1-1,5 атм. 15 мин), сухой жар.

	Термометры для измерения температуры слизистой оболочки, ванны для гидротерапии.	**Дезинфекция среднего уровня:** вирулицидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия.
	УЗ-ванночки и УФ-лампы стоматологов, физиотерапевтические инструменты, ложки для слепков.	**Средства для химической дезинфекции с** указанием на маркировке туберкулоцидной активности.
Некритические соприкасаются с неповрежденной кожей	Термометры для измерения температуры кожных покровов, стетоскопы, манжетки аппаратов для измерения давления, настольные приборы и т. п.	**Дезинфекция уровня:** бактерицидные воздействия. **Средства для химической дезинфекции** без указания на маркировке наличия туберкулоцидной активности.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ №4.

Тема: Физиология микробов. Бактериологический метод исследования.

Учебная цель:

1. Освоить бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.

2.Изучить типы питания бактерий, принципы культивирования микроорганизмов, классификацию питательных сред.

3.Изучить методику получения чистых культур бактерий из исследуемого материала.

План занятия:

7. Питание бактерий: типы, механизмы поступления питательных веществ в микробную клетку.
8. Принципы культивирования микроорганизмов.
9. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
10. Питательные среды: требования, предъявляемые к питательным средам; классификация, состав, приготовление.
11. Демонстрация питательных сред.
12. Посев исследуемого материала (взвеси микроорганизмов) на МПА методом Дригальского (1 этап).

Самостоятельная работа студентов:

3. **Посев исследуемого материала по методу Дригальского.**
4. **Ознакомление с приготовлением питательных сред.**

ОСНАЩЕНИЕ

1.Набор для бактериологического исследования
Штатив- 8 шт.
Пинцет – 8 шт.
Бактериологическая петля-8 шт.
Лоток с подставкой - по 8шт.
Предметные стекла
Спиртовка -8шт.
Флакон с физ.р-ром -8щт.
2.Посев по Дригальскому:
Чашки с МПА 3 шт.-4 набора
Пробирки с взвесью микроорганизмов -4шт.
Стерильные шпатели – 4 шт.
3.Демонстрация: питательные среды: МПА, КА, среда Эндо, среда Китта-Тароцци, агар-агар, среды Гисса, ЖСА, ЩА, среда Висмут-сульфит, МПБ.
4.Таблицы

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Микробиологическое исследование проводится с целью выделения чистых культур микроорганизмов, культивирование и изучения их свойств. Оно необходимо при диагностике инфекционных болезней, для определения видовой принадлежности микробов, в исследовательской работе, для получения продуктов жизнедеятельности микробов (токсинов, антибиотиков, вакцин и т. п.). Для выращивания микроорганизмов в искусственных условиях необходимы особые субстраты — питательные среды. Они являются основой микробиологической работы и определяют результаты всего исследования. Среды должны создавать оптимальные условия для жизнедеятельности микробов.

РЕБОВАНИЯ, ПРЕДЬЯВЛЯЕМЫЕ К СРЕДАМ:

8. Должны быть питательными, т. е. содержать в легкоусвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей микроорганизмов.
9. Иметь оптимальную концентрацию водородных ионов.
10. Быть изотоничными для микробной клетки.
11. Быть стерильными.
12. Быть влажными.
13. Обладать определённым окислительно-восстановительным потенциалом.
14. Быть по возможности унифицированными.

Потребность в питательных веществах и свойствах среды у разных видов микроорганизмов неодинакова. Это исключает возможность создания универсальной среды. Кроме того, на выбор той или иной среды влияют цели исследования.

Группа классификации	Класс	Примеры
По составу	***Простые***	*Жидкие — МПБ, пептон-ная вода Плотные — МПА*
	Сложные	*Жидкие — сахарный бульон Плотные —*

		сахарный агар, кровяной агар
По происхождению	***Естественные***	*Молоко, свёрнутая сыворотка, срез сырого картофеля*
	Искусственные	*Молочно-солевой агар Сывороточный агар Асцит-агар Кровяной агар*
	Синтетические	*Среда Игла, среда 199*
По назначению	***Селективные (элективные)*** *-для стафилококка:* *-для грам(-) кокков и дифтероидов:* *-для энтеробактерий:* *-для холерного вибриона:* *-для лактобацилл и грибов* ***Дифференциально-диагностические*** ***Универсальные*** ***Среды обогащения*** ***Консервирующие***	*Молочно-солевой агар, жел-точно-солевой агар Сывороточные среды Среды с солями теллура Среды с солями желчных кислот Пептонный бульон и щелочной агар Томат-агар, рисовый агар, агар Сабуро* *Эндо, Плоскирева, Левина, Ресселя, Гисса МПБ, МПА, кровяной агар Среда Мюллера Среды с глицерином*
По консистенции	***Жидкие*** ***Полужидкие*** ***Плотные***	*МПБ, пептонная вода, сахарный МПБ МПЖеле, желатиновая МПА, кровяной агар*

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №5

Тема: Физиология микробов. Выделение чистых культур аэробов и анаэробов.

Учебная цель:

1. Освоить методы выделения чистых культур аэробов.
2. Изучить типы дыхания бактерий, способы создания условий анаэробиоза.
3. Освоить методы выделения чистых культур анаэробов.

План занятия:

11. Типы дыхания бактерий.
12. Способы создания условий анаэробиоза.
13. Методы выделения чистой культуры аэробов и анаэробов.
14. Посев почвенной болтушки на среду Китта-Тароцци.
15. Питательные среды для анаэробов, методы культивирования и выделение чистой культуры анаэробов.
16. Изучение культуральных свойств бактерий.
17. Изучение колоний, выросших на чашках, засеянных методом Дригальского.
18. Посев микроорганизмов из изученной колонии на скошенный агар для получения чистой культуры (2 этап).
19. Демонстрация пигментообразования бактерий.
20. Демонстрация характера роста бактерий на плотных и жидких питательных средах.

Самостоятельная работа студентов

1.Завершение 1-го этапа бактериологического метода. Изучение культуральных свойств бактерий.

2.Из выросших колоний на МПА приготовить мазок, окрасить по Граму.

3. Посев из исследуемых изолированных колоний на скошенный агар для накопления чистой культуры.

4. Демонстрация техники анаэробного культивирования и сред для анаэробов: высокий столбик агара, среда Китта-Тароцци, тиогликолевая, Стюарта. Демонстрация микроанаэростата. Способы: Фортнера, Вейнберга.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для приготовления мазка:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром -8щт.
2. Набор красок:
   По Граму– 8 шт.

3.Микроскопы – 8 шт.

Иммерсионное масло – 4 шт.

4. 3чашки с ростом колоний на МПА-4шт.

5.Скошенный агар для пересева – 8 шт.

6. Демонстрация техники анаэробного культивирования и сред для анаэробов: высокий столбик агара, среда Китта-Тароцци, тиогликолевая, Стюарта.

7.Демонстрация микроанаэростата.

8.Демонстрация пигментообразования бактерий.

9.Демонстрация культуральных свойств на жидких и плотных питательных средах.

8. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

Дыхание бактерий. Классификация бактерий по типу дыхания.

Сущность дыхания у микрорганизмов — получение энергии, образующейся в процессе прямого биологического окисления веществ кислородом или путем дегидрирования субстрата. Накопление энергии происходит в специальных структурах бактерий, называемых мезосомами.

В соответствии с потребностями в кислороде бактерии подразделяют на следующие основные группы:

1. Облигатные (строгие) аэробы- микроорганизмы, которые растут и размножаются только в присутствии кислорода. Например: Vibrio cholerae Pseudomonas aeriqinoza.

5. Облигатные анаэробы — микроорганизмы, которые растут и размножаются только без доступа кислорода. Например: Clostridum botulinum, Clostridium te tani.

6. Факультативные анаэробы — микроорганизмы, которые могут расти и размножатся как в присутствии кислорода, так и в бескислородных условиях. Например: Escherichia coli, Salmonella typhi.

7. Микроаэрофилы бактерии — микрорганизмы, которые лучше растут и размножаются при повышенном содержании CO_2 и низком содержании кислорода. Например: Helicobacter pylori, Campylobacter coli.

Методы культивирования анаэробов

Способы создания анаэробных условийа) механический — удаление (откачивание) воздуха из анаэростата с помощью вакуумного отсоса. Затем анаэростат заполняют газовой смесью, которая состоит из 80% азота, 10% водорода и 10% углекислого газа;

б)химический — поглощение кислорода за счет химических веществ (щелочной раствор пирогаллола, двууглекислая сода);

в) биологический (метод Фортнера) — совместное культивирование анаэробов и аэробов. При этом на одну чашку Петри с плотной питательной средой (чаще используют среду Цейсслера) засевают культуру анаэробов, на другую — культуру аэробов, способных энергично поглощать кислород. В качестве аэробов используют культуру чудесной палочки (Serratia marcescens). Края чашки Петри парафинируют;

г) физико-химический — посев исследуемого материала на специальные среды для анаэробов, например, среды Китта-Тароцци и Вильсона-Блера (железо-сульфитный агар). Среды перед посевом регенерируют (кипятят на водяной бане в течение 15минут) для удаления кислорода.

Состав среды Китта-Тароцци:

-кусочки печени — для адсорбции кислорода;

-1% глюкозы — для осуществления анаэробного гликолиза;

-полужидкий агар — не допускает кислород в толщу среды.

Получение чистой культуры анаэробов

1. Метод Вейнберга (методразведений)

Для получения изолированных колоний анаэробов из среды Китта-Тароцци с ростом анаэробных бактерий забирают культуру пастеровской пипеткой с запаянным концом и

последовательно опускают эту пипетку вначале в 3 пробирки с физиологическим раствором, а затем — 3 пробирки с растопленным полужидким сахарным МПА. После термостатирования при 37^0С в последних наблюдается рост изолированных колоний анаэробов.

2. Метод Перетца.

Одно из последних разведений по Вейнбергу в полужидком агаре выливают в крышку чашки Петри и закрывают ее дном так, чтобы удалить воздух. Края чашки Петри парафинируют. Посев исследуемого материала на среду Цейсслера секторами с последующим культивированием в анаэростате.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №6

Тема: Физиология микробов. Принципы культивирования и идентификации микробов.

Учебная цель: Освоить бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.

План занятия:

6. Ферменты, классификация. Ферменты, расщепляющие углеводы, белки, жиры, ферменты патогенности. Питательные среды, используемые для изучения ферментативной деятельности микроорганизмов.
7. Проверка чистоты выделенной культуры макро- и микроскопически.
8. Идентификация чистой культуры бактерий по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, фаголизабельным свойствам (3 этап).
9. Бактериофаги, их применение для идентификации бактерий.
10. Определения антибиотикочувствительности методом стандартных дисков.

Самостоятельная работа

7. Приготовление мазка, окраска по Граму.
8. Посев культуры на среды Гисса и МПБ.
9. Определение антибиотикочувствительности.
10. Демонстрация питательных сред для изучения ферментативной активности микроорганизмов.
11. Демонстрация феномена бактериофагии на плотных и жидких питательных средах.
12. Демонстрация выделения чистой культуры подвижных микроорганизмов по методу Шукевича.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для приготовления мазка:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром -8щт.
2. Набор красок:
   По Граму– 8 шт.
3. Микроскопы – 8 шт.
   Иммерсионное масло – 4 шт.
4. Пробирки с ростом на скошенном агаре – 8 шт.
5. Среды Гисса (с глюкозой, лактозой, маннитом, мальтозой, сахарозой), для посева со скошенного агара- 4 набора.
6. Пробирки с МПБ для посева со скошенного агара, для изучения протеолитических свойств – 4 шт.
7. Индикаторные бумажки на сероводород и индол -4 шт.
8. Чашки с МПА для посева со скошенного агара на антибиотикочувствительность – 4 шт.
9. Индикаторные стандартные бумажные диски с антибиотиками – 4 набора.
10. Стерильный шпатель – 4 шт.
11. Демонстрация феномена бактериофагии на плотных и жидких питательных средах.
12. Демонстрация выделения чистой культуры подвижных микроорганизмов по методу Шукевича.
13. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

III этап исследования. Через 24 часа на скошенном МПА обнаружен однородный рост в виде сплошного налета желтоватого цвета. С целью проверки чистоты выделения культуры из пробирки приготавливают мазок, окрашивают по Граму и микроскопируют. Для оценки чистоты культуры необходимо просматривать не менее 10 полей зрения. Нахождение в мазках со скошенного МПА только гроздьевидно расположенных грамположительных кокков, свидетельствует о чистоте выделенных культур.

Для определения биохимических бактерий производят посев выделенной культуры в среды цветного ряда (глюкоза, лактоза, маннит, сахароза, мальтоза и в МПБ для определения индола и сероводорода), или определяют эти свойства с помощью Системы Индикаторных Бумажных дисков (СИБ).

Посевы помещают в термостат при температуре 37°С на 24 часа.

ферменты бактерий

Ферменты являются высокоспецифичными биологическими катализаторами, без которых невозможны жизнь и размножение. Большое количество реакций, происходящих при жизни бактериальной клетки, указывает на существование у бактерий значительного количества ферментов. Ферменты — вещества белковой природы с большим молекулярным весом. Некоторые из них относятся к протеинам, другие являются сложными белками. Они построены из двух частей белка и небелковой части, называемой простетической группой. В состав ее могут входить витамины. нуклеотиды, атомы железа и пр. Связь между белковой частью фермента и

го простетической группой может быть прочной и непрочной. При наличии непрочной связи в растворах наступает диссоциация фермента и при этом может освобождаться свободная простетическая группа.

Легко диссоциирующие иростетические группы ферментов называются коферментами. Обычно ферменты подразделяются на следующие основные группы:

1. Оксидоредуктазы. все ферменты, катализирующие окислительно восстановительные реакции.

2. Трансферазы. катализирующие перенос тех или иных групп (например аминогрупп, фосфатных остатков и т. д.

3. Гидролазы, расщепляющие путем гидролиза Гт или иные соединения; к этому классу относятся также фосфатазы и дезампназы — ферменты, отщепляющие соответственно гидролитическим путем фосфат или аммонийные группы от различных органических соединений.

4. Лиазы, ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путем определенные группы (например, СОг, НгО, SH2 и т. д.).

5. Изомеразы, катализирующие внутримолекулярные перестройки в субстрате.

6. Лигазы (синтетазы) — класс ферментов, катализирующих присоединение друг к другу двух молекул с одновременным разрывом ппрофосфатной связи в трифосфатах (например, образующие С — О, С — N или С — S связи).

Наиболее высокой ферментативной активностью обладают сапрофиты; в меньшей степени это свойство выражено у патогенных бактерий. Изучение ферментов патогенных бактерий имеет исключительно важное значение, так как на основании определения ферментативной активности микробов можно дифференцировать различные виды и определять природу того или иного возбудителя заболеваний. Наряду с этим ферментативная активность микробов определяет патогенез и клиническую картину инфекционного заболевания.

Ферменты дифференцируют на экзо и эндоферменты. Экзоферменты выделяются клеткой во внешнюю среду, осуществляют процессы расщепления высокомолекулярных органических соединений на более простые, доступные для ассимиляции.

Ферменты бактерий подразделяются на конститутивные и индуцибельные. К первой группе относятся те ферменты, которые синтезируются бактериальной клеткой вне зависимости от того, на какой среде бактерия выращивается. Индуцибельные ферменты продуцируются данной бактерией лишь в ответ на действие специфического индуктора, присутствующего в среде.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №7

ТЕМА: Принципы культивирования и идентификации микробов (продолжение)

Сдача модуля по теме «Влияние на микробы физических и химических факторов. Физиология микробов. Принципы культивирования и идентификации микробов».

Учебная цель:

1. Изучить методику выделения чистых культур бактерий из исследуемого материала.

План занятия:

3. Выделение чистой культуры аэробных и анаэробных бактерий (заключение).
4. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

IV этап исследования. Учет биохимических свойств.

глюкоза	лактоза	маннит	сахароза	мальтоза	индол	сероводород
К	К	К	К	К	+	-

- к — кислота

ВЫВОД: из смеси бактерий выделена и идентифицирована Staphelococcus spp. на основании морфологических, тинкториальных (грамположительные, гроздьевидно-расположенные кокки) и культуральных (гладкие выпуклые колонии золотистого цвета) и биохимических свойств.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Среды Гисса с посевом (с глюкозой, лактозой, маннитом, мальтозой, сахарозой), для учета результатов- 4 набора.
2. Пробирки с МПБ, для учета результатов протеолитических свойств – 4 шт.
3. Чашки с МПА для учета результатов на антибиотикочувствительность – 4 шт.
4. Демонстрация ферментативной активности на средах Гисса кишечной палочки и стафилококков.
5. Демонстрация ферментативной активности на API -системах кишечной палочки и стафилококков.
6. Демонстрация на антибиотикочувствительность методом серийных разведений.
7. Таблицы

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №8.

Тема: Общая вирусология. Методы вирусологии. Бактериофаги и фаготипирование.

Учебная цель:

1. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
2. Изучить строение и морфологию бактериофагов.

План занятия:

1. Особенности биологии вирусов**.**
2. Принципы классификации вирусов.
3. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.
4. Морфология и строение бактериофагов, их практическое применение в медицине.
5. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

- Изучение демонстрации феномена бактериофагии на плотных и жидких питательных средах.
- Изучение демонстрации внутриклеточных включений (тельца Бабеша-Негри).

ОСНАЩЕНИЕ

1. Демонстрация фаготипирования.
2. Демонстрация феномена бактериофагии на жидких и плотных
   a. питательных средах.
3. Демонстрация сред для культивирования культур тканей: среды Хенкса, 199, Игла.
4. Демонстрация овоскопа с куриным эмбрионом.
5. Демонстрационные микропрепараты: внутриядерные включения при кори, тельца Пашена при оспе, тельца Бабеша –Негри при бешенстве.
6. Демонстрационные микропрепараты: культур тканей, цитопатическое
   a. действие вируса, реакция гемадсорбции.
7. Демонстрация реакции гемагглютинации.
8. Демонстрация цветной пробы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИЛ ПО ТЕМЕ

ВИРУСЫ

Вирусы обладают свойствами, не позволяющими применить для их изучения обычные методы микробиологического исследования.

Отличительные свойства вирусов:

1. Мельчайшие размеры, измеряемые тысячными долями микрона - миллимикронами - от 8-10 m до 300-400 m.
2. Фильтруемость через специальные мелкопористые фильтры, не пропускающие другие микроорганизмы.
3. Неклеточная структура.
4. Абсолютный паразитизм, т.е. способность жить и размножаться только в живых клетках.

Форма вирусных частиц имеет несколько типов:

6. Палочковидная
7. Сферическая (шаровидная)
8. Кубоидальная

9. Головчатая (сперматозоидообразная)
10.Нитевидная

Зрелые вирусные частицы, называемые *вирионами,* имеют следующую схему строения: в центральной части находится молекула ДНК или РНК, которая образует *нуклеоид.* Вокруг располагается защитная белковая оболочка, называемая *капсидом,* построенная из морфологических единиц, называемых *капсомерами.* Некоторые сложноустроенные вирионы имеют внешнюю оболочку, называемую *суперкапсидом.*

Для микробиологической диагностики вирусных инфекций в настоящее время применяют три основных методических подхода:

4. **Вирусологическая диагностика** - основана на выделении из исследуемого материала вируса и его последующей идентификации.
5. **Серологическая диагностика** - определение специфических иммунологических изменений в организме под действием вирусов (чаще всего с помощью диагностикумов выявляют в сыворотке крови противовирусные антитела).
6. **Молекулярно-биологическая диагностика** - обнаружение в клиническом материале фрагментов нуклеиновых кислот вирусов-возбудителей с помощью зондов (гибридизация НК) или ПЦР.

Отдельные вирусы, размером более 200 m , могут быть окрашены по Романовскому - Гимзе; вирусы меньших размеров (вирусы оспы) удается обнаружить только при помощи особых способов обработки.

Бактериофаги различаются по химической структуре, типу нуклеиновой кислоты, морфологии и характеру взаимодействия с бактериями. По размеру бактериальные вирусы в сотни и тысячи раз меньше микробных клеток.

Типичная фаговая частица (вирион) состоит из головки и хвоста. Длина хвоста обычно в 2 — 4 раза больше диаметра головки. В головке содержится генетический материал — одноцепочечная или двуцепочечная РНК или ДНК с ферментом транскриптазой в неактивном состоянии, окруженная белковой или липопротеиновой оболочкой — ***капсидом,*** сохраняющим геном вне клетки .

Нуклеиновая кислота и капсид вместе составляют нуклеокапсид. Бактериофаги могут иметь икосаэдральный капсид, собранный из множества копий одного или двух специфичных белков. Обычно углы состоят из пентамеров белка, а опора каждой стороны из гексамеров того же или сходного белка. Более того, фаги по форме могут быть сферические, лимоновидные или плеоморфные. Хвост представляет собой белковую трубку — продолжение белковой оболочки головки, в основании хвоста имеется АТФаза, которая регенерирует энергию для инъекции генетического материала. Существуют также бактериофаги с коротким отростком, не имеющие отростка и нитевидные.

Фаги, как и все вирусы, являются абсолютными внутриклеточными паразитами. Хотя они переносят всю информацию для запуска собственной репродукции в соответствующем хозяине, у них отсутствуют механизмы для выработки энергии и рибосомы для синтеза белка. У некоторых фагов в геноме содержится несколько тысяч оснований, тогда как фаг G, самый крупный из секвенированных фагов, содержит 480 000 пар оснований — вдвое больше среднего значения для бактерий, хотя всё же недостаточного количества генов для важнейшего бактериального органоида как рибосомы.

Большое количество выделенных и изученных бактериофагов определяет необходимость их систематизации. Классификация вирусов бактерий претерпевала изменения: основывалась на характеристике хозяина вируса, учитывались серологические, морфологические свойства, а затем строение и физико-химический состав вириона .

В настоящее время согласно Международной классификации и номенклатуре вирусов бактериофаги, в зависимости от типа нуклеиновой кислоты разделяют на ДНК- и РНК-содержащие.

По морфологическим характеристикам ДНК-содержащие фаги выделены в следующие семейства: Myoviridae, Siphoviridae, Podoviridae, Lipothrixviridae, Plasmaviridae,

Corticoviridae, Fuselloviridae, Tectiviridae, Microviridae, Inoviridae Plectovirus и Inoviridae Inovirus.

РНК-содержащие: Cystoviridae, Leviviridae

По характеру взаимодействия бактериофага с бактериальной клеткой различают вирулентные и умеренные фаги. Вирулентные фаги могут только увеличиваться в количестве посредством литического цикла. Процесс взаимодействия вирулентного бактериофага с клеткой складывается из нескольких стадий: адсорбции бактериофага на клетке, проникновения в клетку, биосинтеза компонентов фага и их сборки, выхода бактериофагов из клетки.

Первоначально бактериофаги прикрепляются к фагоспецифическим рецепторам на поверхности бактериальной клетки. Хвост фага с помощью ферментов, находящихся на его конце (в основном лизоцима), локально растворяет оболочку клетки, сокращается и содержащаяся в головке ДНК инъецируется в клетку, при этом белковая оболочка бактериофага остается снаружи. Инъецированная ДНК вызывает полную перестройку метаболизма клетки: прекращается синтез бактериальной ДНК, РНК и белков. ДНК бактериофага начинает транскрибироваться с помощью собственного фермента транскриптазы, который после попадания в бактериальную клетку активируется. Синтезируются сначала ранние, а затем поздние иРНК, которые поступают на рибосомы клетки-хозяина, где синтезируются ранние (ДНК-полимеразы, нуклеазы) и поздние (белки капсида и хвостового отростка, ферменты лизоцим, АТФаза и транскриптаза) белки бактериофага. Репликация ДНК бактериофага происходит по полуконсервативному механизму и осуществляется с участием собственных ДНК-полимераз. После синтеза поздних белков и завершения репликации ДНК наступает заключительный процесс — созревание фаговых частиц или соединение фаговой ДНК с белком оболочки и образование зрелых инфекционных фаговых частиц.

Продолжительность этого процесса может составлять от нескольких минут до нескольких часов. Затем происходит лизис клетки, и освобождаются новые зрелые бактериофаги. Иногда фаг инициирует лизирующий цикл, что приводит к лизису клетки и освобождению новых фагов. В качестве альтернативы фаг может инициировать лизогенный цикл, при котором он вместо репликации обратимо взаимодействует с генетической системой клетки-хозяина, интегрируясь в хромосому или сохраняясь в виде плазмиды. Таким образом, вирусный геном реплицируется синхронно с ДНК хозяина и делением клетки, а подобное состояние фага называется профагом. Бактерия, содержащая профаг, становится лизогенной до тех пор, пока при определенных условиях или спонтанно профаг не будет стимулирован на осуществление лизирующего цикла репликации. Переход от лизогении к лизису называется лизогенной индукцией или индукцией профага. На индукцию фага оказывает сильное воздействие состояние клетки хозяина предшествующее индукции, также как наличие питательных веществ и другие условия, имеющие место в момент индукции. Скудные условия для роста способствуют лизогенному пути, тогда как хорошие условия способствуют лизирующей реакции.

Очень важным свойством бактериофагов является их специфичность: бактериофаги лизируют культуры определенного вида, более того, существуют так называемые типовые бактериофаги, лизирующие варианты внутри вида, хотя встречаются поливалентные бактериофаги, которые паразитируют в бактериях разных видов.

Вирусы выделены в отдельное «царство»-Viга. Они содержат только один тип нуклеиновой кислоты, не имеют клеточной структуры, не имеют самостоятельного обмена веществ, являясь внутриклеточными паразитами, репродукция вирусов осуществляется разобщенным способом.

По международной классификации все вирусы подразделяются по типу нуклеиновой кислоты на 2 подтипа - РНК- и ДНК-содержащие. Дальнейшее разделение вирусов проводится на основании размеров вирусов, типа симметрии при формировании капсидов, наличия или отсутствия внешних оболочек и количества содержащихся в них капсомеров.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ является основным и наиболее достоверным, позволяет выделить вирус из исследуемого материала с последующей его идентификацией. С целью накопления вирусосодержащего материала используются куриные эмбрионы и культуры тканей (искусственно культивируемые клетки той или иной ткани). Культуры тканей поддерживаются на естественных (среда 27, Эндерса) и синтетических (среда 199, Игла, Мельника-Риордана) питательных средах, приготовленных на основе растворов Хенкса и Эрла. Культивируются они в обычных пробирках, чашках Карреля, пробирках Барского.

Методика заражения куриного эмбриона

Существует несколько способов заражения куриного эмбриона. Чаще всего материал вводят в аллантоисную и амниотическую полости, на хорионаллантоисную оболочку и в желточный мешок. Перед заражением скорлупу яйца над воздушной камерой обрабатывают 70% спиртом, обжигают на пламени, смазывают 2% йодной настойкой, вторично протирают спиртом и обжигают.

При заражении в аллантоисную полость в скорлупе над воздушной камерой (границы которой заранее обводят карандашом при просвечивании яйца в овоскопе) проделывают небольшое отверстие с помощью ножниц или скальпеля. Туберкулиновым шприцем вводят 0,1-0,2 мл вируссодержащего материала на глубину 2-3 мм ниже границы воздушной камеры. Прокол в скорлупе заливают расплавленным парафином. Вскрытие зараженных эмбрионов производят в сроки максимального накопления вируса (через 48-72 ч инкубации при температуре 37 С) после обработки скорлупы спиртом и 2%
раствором йода ее рассекают и сбрасывают, снимают осторожно подскорлупную оболочку и рассматривают хорионаллантоисную оболочку вокруг места заражения на наличие очагов поражений (геморрагий, белесоватых очагов поражений).

Классификация клеточных культур:

• **первичные** получают непосредственно из тканей животного и человека путем разрушения протеолитическими ферментами (трипсин, коллагеназа) межклеточного вещества. Разобщенные клетки, помещенные в питательную среду, способны прикрепляться к поверхности культурального сосуда и размножаться, образуя монослой - слой толщиной в одну клетку. С помощью специальных реактивов клетки можно снять с поверхности одного сосуда и пересадить в другой. Такая манипуляция называется **пассажем.** Первичные культуры выдерживают не более 5-10 пассажей.

• **перевиваемые** (пассажные) клеточные культуры способны выдерживать неограниченное количество пассажей. Они происходят из опухолевых клеток, утративших дифференциацию и не имеющих ограничений роста.

• **полуперевиваемые** (диплоидные) культуры - фибробластоподобные клетки, которые способны к быстрому размножению, выдерживают до 30-60 пассажей и сохраняют исходный набор хромосом.

Вирусы могут репродуцироваться только в клетках живого организма. В связи с этим вирусы культивируются путем заражения куриных эмбрионов или культур тканей, а также животных-сосунков.

Выявление (индикация) вирусов

Обнаружение вируса в курином эмбрионе

1.Гибель
2.Появление запаха при вскрытии
3.Помутнение жидкости в полости
4. Образование язвочек и кровоизлияний на оболочках

Биологический метод исследования заключается в заражении чувствительного к вирусу животного исследуемым материалом, изучении клинической и патологоанатомической картины заболевания. В рамках этого метода используются

различные животные: обезьяны, кролики, морские свинки, собаки, мыши, крысы. Способы заражения: субдуральный, внутримозговой, интраназальный и другие.

Способы обнаружения вируса в организме лабораторных животных различаются в зависимости от вида животного и типа вируса.

Обнаружение вирусов в культуре клеток

Выявление по цитопатическому действию (ЦПД). ЦПД представляет собой дегенеративные изменения в клетках, которые появляются в результате репродукции в них вирусов.

Различают полную и частичную дегенерацию клеток монослоя.

При полной дегенерации, вызываемой, например вирусами полиомиелита, Коксаки и ЕСНО, клетки монослоя подвергаются значительным изменениям, большее их количество слущивается со стекла. Оставшиеся единичные клетки сморщены

Частичная дегенерация имеет несколько разновидностей:

3 .По типу гроздьеобразования (аденовирусы);

4 .По типу очаговой деструкции (оспа, грипп);

3.По типу симпластообразования (корь, паротит, парагрипп, герпес, ВИЧ).

Пролиферативный тип изменений характерен для некоторых онкогенных вирусов, трансформирующих клетки в злокачественные.

Внутриклеточные включения образуются при репродукции некоторых вирусов в цитоплазме и ядре клеток (оспы,бешенства, гриппа, герпеса и др.) Их обнаруживают при микроскопии после окраски монослоя по Романовскому - Гимзе, а также при люминесцентной микроскопии.

Цветная проба Солка. В результате жизнедеятельности клеток в питательной среде накапливаются кислые продукты. В результате этого цвет входящего в состав среды индикатора (фенолового красного) становится оранжевым. При заражении культуры клеток такими цитопатогенными вирусами, как энтеровирусы или реовирусы, метаболизм клеток подавляется, pH среды и ее цвет не меняются (среда остается красной).

Реакция гемагглютинации. В основе этой реакции лежит способность вирусов, содержащих рецепторы-гемагглютинины, «склеивать» эритроциты. Если есть гемаглютинины - РГА+(зонтик), если нет - РГА - (пуговка).

Реакция гемадсорбции. Механизм сходен с РГА.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9

Тема: Основы генетики. Молекулярно-биологический метод диагностики. Полимеразная цепная реакция, ее разновидности.

Учебная цель:

1. Изучить способы передачи генетической информации между бактериями: трансдукция, трансформация и конъюгация.

2. Изучить основы биотехнологии и генетической инженерии.

План занятия:

1. Медицинская биотехнология.

2. Генетические рекомбинации: трансдукция, конъюгация, трансформация
3. Роль генетических рекомбинаций в генетической инженерии и медицинской биотехнологии.
4. Использование плазмид в генно-инженерных исследованиях.
5.Применение генетических и молекулярно-биологических методов в диагностике инфекционных заболеваний: ПЦР, метод молекулярных зондов.
6.Биопрепараты, получаемые методом генной инженерии (вакцины, моноклональные антитела, гормоны, диагностикумы).

Самостоятельная работа студентов
1.Учет результатов опыта трансформации.
2. Учет результатов опыта трансдукции.
3. Учет результатов опыта коньюгации.
4.Указать правильные ответы в тестовых заданиях.
5.Зарисовка таблиц.

ОСНАЩЕНИЕ

1.Учет результатов опыта трансформации.
2. Учет результатов опыта трансдукции.
3. Учет результатов опыта коньюгации.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Постановка опыта трансформации

Реципиент — штамм *Bacillus subtilis Str* (сенная палочка, чувствительная к стрептомицину); донор — ДНК, выделенная из штамма *B. Subtilis Str* (устойчивого к стрептомицину). Селективная среда для отбора рекомби-нантов (трансформантов) питательный агар, содержащий 100 ЕД/мл стрептомицина.

К 1 мл бульонной культуры *B. Subtilis* добавляют 1 мкг/мл раствора ДНКазы в 0,5 мл раствора хлорида магния для разрушения ДНК, не проникшей в бактериальные клетки реципиентного штамма, и выдерживают в течение 5 мин. Для определения количества образовавшихся стрептомицинустойчивых рекомбинантов (трансформантов) 0,1 мл неразведенной смеси высевают на селективную среду в чашку Петри. Для определения количества клеток реципиентной культуры в изотоническом растворе хлорида натрия готовят 10-кратные разведения до 10^{-5}-10^{-6} (для получения сосчитываемого количества колоний), высевают по 0,1 мл на питательный агар без стрептомицина, а для контроля — на агар со стрептомицином. На последней среде реципиентная культура не должна расти, поскольку она чувствительна к стрептомицину. Посев инкубируют, при 37^0 С. На следующий день учитывают результаты опыта и определяют частоту трансформации по отношению количества выросших рекомбинантных клеток к числу клеток реципиентного штамма.

Допустим, что при высеве 0,1 мл культуры реципи-ентного штамма в разведении 10^{-5} выросло 170 колоний, а при высеве 0,1 мл неразведенной смеси — 68 колоний рекомбинантного штамма. Поскольку каждая колония образовалась в результате размножений только одной бактериальной клеткой, то в 0,1 мл засеянной культуры реципиента содержится 170 х 10^5 жизнеспособных клеток, а в 1 мл — 170 х 10^6, или 1,7 х 10^8. В то же время в 0,1 мл смеси находится 68 рекомбинантных клеток, а в 1 мл — 680, или 6,8 х 10^2.

Таким образом, частота трансформации в данном опыте будет равна:

$$\frac{6{,}8\cdot10^{-2}}{1{,}7\cdot10^{8}}=4{,}0\cdot10^{-6}$$

Постановка опыта специфической трансдукции

Реципиент — штамм E. coli lac$^-$, лишенный 3-галактозидазного оперона, контролирующего ферментацию лактозы. Трансдуцирующий фаг — фаг X dgal, в геноме которого часть генов замещена (3-галактозидазным опе-роном E. coli. Он является дефектным, т. е. не способен вызывать продуктивную инфекцию, заканчивающуюся лизисом кишечной палочки, и обозначается буквой d (фаг dgal) с названием содержащегося в геноме бактериального оперона gal. Селективная среда — среда Эндо, на которой лактозоотрицательные бактерии реципиентного штамма образуют бесцветные колонии, а лактозоположительные колонии рекомбинантного штамма приобретают красный цвет с металлическим оттенком. К 1 мл 3-часовой бульонной культуры реципиентного штамма добавляют 1 мл трансдуцирующего фага dgal в концентрации 10^6-10^7 частиц в 1 мл. Смесь инкубируют в течение 60 мин при 37^0C, после чего готовят ряд 10-кратных разведений (в зависимости от предполагаемой концентрации бактерий) для получения сосчитываемого количества колоний. Из пробирки с разведением 10^{-6} делают высев по 0,1 мл культуры на 3 чашки Петри со средой Эндо и равномерно распределяют жидкость шпателем по поверхности среды.

Посевы инкубируют в течение 1 суток, после чего отмечают результаты опыта и вычисляют частоту трансдукции по отношению количества клеток рекомбинантов (транс-дуктантов), обнаруженных на всех чашках, к числу клеток реципиентного штамма. Например, после посева 0,1 мл смешанной культуры в разведении 10^{-6} на 3 чашках со средой Эндо выросло соответственно 138, 170 и 160 бесцветных колоний реципиентного штамма, на первой и последней чашках — 5 и 1 колонии трансдуктантов красного цвета. Следовательно, частота трансдукции в этом случае будет равна:

$$\frac{(5+1)\cdot10\cdot10^{-6}}{(138+170+160)\cdot10\cdot10^{-6}}=\frac{6}{486}=1{,}3\cdot10^{-2}$$

Постановка опыта конъюгации с целью передачи фрагмента хромосомы, который содержит ген leu, контролирующий синтез лейцина.

Донор — штамм *E. coli* K12 Hfr *leu* Str^S; реципиент — штамм *E. Coli* K12 F$^-$ *leu*+ Str^R . Hfr — обозначение состояния, для которого характерна высокая частота рекомбинации. Селективная среда для выделения рекомбинантов -минимальная глюкозосолевая среда: KH_2PO_4 — 6,5 г, $MgSO_4$ — 0,1 г, $(NH_4)2SO_4$ — 1 г, $Ca(NO_3)2$ — 0,001 г, $FeSO_4$ — 0,0005 г, глюкозы — 2 г, стрептомицина — 200 ЕД/мл, дистиллированной воды — 1 л.

К 2 мл 3-часовой культуры реципиента добавляют 1 мл бульонной культуры донора. Посевы инкубируют при 37^0 С в течение 30 мин. Затем смесь разводят до 10^{-2}-10^3 и высевают по 0,1 мл на селективную агаровую среду в чашки Петри, на которой вырастут только колонии рекомбинантов. В качестве контроля на ту же среду высевают донорский и реципиентный штаммы, которые не будут расти на ней, т. к. первый штамм чувствителен к стрептомицину, а второй ауксотрофен по лейцину. Кроме того, культуру донорского штамма высевают на селективную среду без стрептомицина, а культуру реципиентного штамма — на полную среду (питательный агар) с антибиотиками для определения числа жизнеспособных клеток. Посевы инкубируют при 37^0 С до следующего дня. После подсчета числа выросших колоний определяют частоту рекомбинаций по отношению количества рекомбинантных клеток к реципиентным.

Например, после посева 0,1 мл смеси донорских и реципиентных культур в разведении 10^{-2} выросло 150 колоний рекомбинантов, а после посева 0,1 мл культуры реципиента из разведения 10^{-6} 75 колоний. Таким образом, частота рекомбинации будет равна:

$$\frac{150 \cdot 10 \cdot 100}{75 \cdot 10 \cdot 10^{6}} = \frac{1{,}5 \cdot 10^{5}}{7{,}5 \cdot 10^{8}} = 2{,}0 \cdot 10^{-4}$$

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — один из современных молекулярно-генетических методов, основанный на принципе многократного копирования (амплификации) определенного участка ДНК или РНК. В результате этого процесса количество определяемой ДНК в пробе возрастает в десятки миллионов раз, что делает возможной последующую детекцию амплифицированной ДНК. Таким образом, ПЦР позволяет выявить ничтожно малые фрагменты ДНК, характерные для определенного вида микробов, и точно идентифицировать этот вид.

ПЦР в клетке была открыта более 30 лет назад Нобелевскими лауреатами А.Кронбергом и Д.Ледебергом. Принцип метода ПЦР in vitro был разработан К.Мюлисом в 1983 году, также ставшим Нобелевским лауреатом. Почти немедленно появились сообщения о его практическом применении. Однако в этот период из-за отсутствия необходимого оборудования ПЦР проводили путем ручного переноса пробирок в термостаты с нужной температурой. Необходимый для синтеза ДНК фермент ДНК-полимераза разрушался после каждого этапа денатурации (при 95°С), поэтому требовалось постоянное добавление его новых порций.

В 1988 г была получена термостабильная ДНК-полимераза из бактерии Thermophilus aquaticus, живущей в горячих источниках. Были разработаны специальные приборы для амплификации (термоциклеры). Созданы современные лазерные технологии сиквенирования (расшифровки нуклеотидных последовательностей ДНК). Это привело к тому, что ПЦР стал доступным для широкого применения в лабораторной практике.

В настоящее время наиболее быстро развиваются пять основных направлений генной диагностики:

- инфекционных заболеваний (туберкулез, гонорея, вирусные инфекции — гепатиты В и С, ВИЧ, ЦМВ и др.),
- онкологических заболеваний,
- генетических заболеваний,
- идентификация личности (трансплантация органов и тканей, судебная медицина, определение отцовства),
- диагностика патогенов в пище.

Исследуемый материал: кровь, сыворотка, лаважные массы, мокрота, слюна, желудочный сок, биопсийный материал, мазки, смывы.

Постановка ПЦР включает следующие этапы:

1. Выделение ДНК (РНК) из исследуемого материала (пробоподготовка).

Клетки лизируют детергентами или высокой температурой. Затем отделяют ДНК от клеточных обломков и разрушают клеточные нуклеазы. Все это обеспечивают приборы: миницентрифуги, развивающие скорость 12000 -14000 оборотов в минуту, вортексы для перемешивания, минитермостаты для пробирок, обеспечивающие быстрое изменение температуры от +30°С до +100°С.

2. Непосредственная амплификация выделенных участков (копий) нуклеиновых кислот.

ПЦР обеспечивает быстрое и многократное умножение, амплификацию (amplification — усиление, увеличение) количества фрагментов генома. Для этого в пробирку с выделенной ДНК добавляют необходимые реактивы и помещают в амплификатор (термоциклер). Этот прибор позволяет циклически изменять и поддерживать перепады температур в пробирке на

несколько десятков градусов за несколько секунд. Если в пробирке есть искомая ДНК, то в ней происходит ряд процессов:

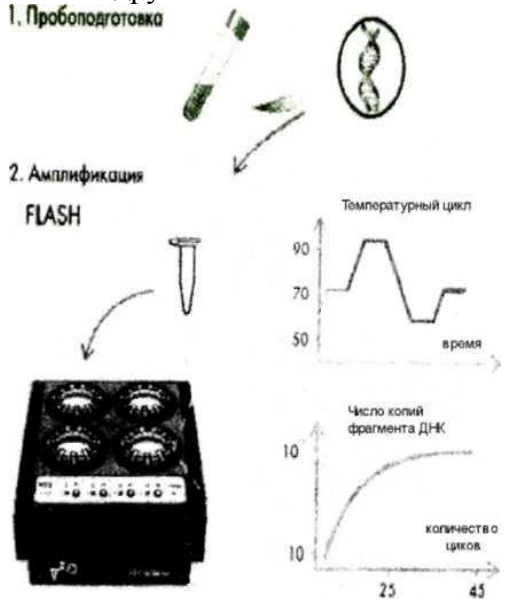
- В результате нагревания до 94 -95°С двойная цепь ДНК разделяется на две отдельные цепи.

- К одноцепочечной ДНК-мишени присоединяется праймер.

Праймер — это последовательность из 15 — 30 нук-леотидов, комплементарная маркерному фрагменту ДНК. При создании оптимальной температуры (45-70°С) происходит связывание (отжиг) праймера с соответствующим участком ДНК: один праймер — на одной нити, другой — на второй нити ДНК. Отжиг протекает в соответствии с правилом комплементарности Чаргаффа, означающим, что в двухцепочечной молекуле ДНК напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина — цитозин.

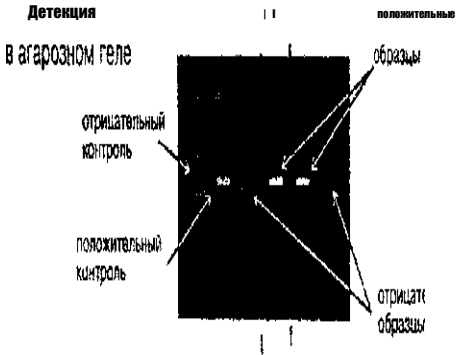
- Синтез (элонгация) — достраивание второй цепи ДНК.

ДНК-полимераза присоединяет нуклеотиды к праймерам, достраивая двухцепочечные фрагменты ДНК (~ при 72°С). Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат матрицей для синтеза новых цепей в следующем цикле амплификации — это и есть цепная реакция в ПЦР. В результате количество копий фрагмента увеличивается в геометрической прогрессии и через 25 циклов амплификации синтезируется 10^6 копий фрагмента. Через 30 — 40 циклов синтезируется такое количество ДНК, которое можно визуально учитывать после электрофореза в агарозном геле или другими способами.



3. Определение (детекция) продуктов ПЦР, полученных на втором этапе.

Выявление наработанного продукта чаще всего проводят при помощи электрофореза в 2-3% агарозном геле, содержащем бромид этидия (специфический флюоресцентный краситель ДНК). Поглощая ультрафиолетовый свет краситель, связанный с ДНК, флюоресцирует. В



результате видна оранжевая полоска на уровне контрольной ДНК. Кроме того, используют ферментно-гибридизационный метод или ПЦР в режиме «реального времени» с помощью флюоресцентных красителей.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №10

Тема: Антибактериальная химиотерапия

Учебная цель:

3. Изучить механизм действия антибиотиков на микробную клетку.
4. Изучить методику определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

План занятия:

9. Антибиотики, определение, классификация по химической структуре, спектру, типам и механизму действия.
10. Химиотерапевтические препараты, механизм их действия на микробную клетку.
11. Механизмы лекарственной устойчивости бактерий.
12. Побочное действие антибиотиков и синтетических противомикробных лекарственных средств.
13. Методы и единицы измерения антимикробной активности.
14. Противовирусные химиотерапевтические препараты.
15. Демонстрация антибиотиков с различным механизмов и спектро действия.
16. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов

6. Учесть результаты дисковой антибиотикограммы.
7. Учесть результаты кассетного микрометода.
8. Оформить протокол исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Чашки Петри с МПА с антибиотикочувствительностью -4 шт.
2. Демострация: индикаторные бумажные диски с антибиотиками.
3. Демонстрация: метод серийных разведений.
4. Демонстрация: антибиотики различного спектра действия.
5. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Все антибиотики обладают избирательностью действия. Их относительная безвредность для человека определяется, прежде всего, тем, что они специфически подавляют такие метаболические процессы в микробной клетке или вируса, которые отсутствуют в эукариотной клетке или недоступны для них. В этом отношении уникальным является механизм действия бета-лактамных антибиотиков. Мишенями для них являются транспептидазы, которые завершают синтез пептидогликана клеточной стенки. Поскольку клеточная стенка есть только у прокариот, в эукариотной клетке нет мишени для бета-лактамных антибиотиков. Транспептидазы представляют собой набор белков-ферментов, локализованных в цитоплазматической мембране бактериальной клетки. Отдельные бета-лактамы различаются по степени сродства к тому или иному ферменту, которые получили название пенициллинсвязывающих белков. Поэтому биологический эффект бета-лактамных антибиотиков различен: бактериостати-ческий, бактерицидный, литический.

Кроме бета-лактамных антибиотиков, синтез клеточной стенки поражают такие антибиотики, как бацитрацин, фосфомицин, циклосерин, ванкомицин, ристомицин, однако иным путем, чем пенициллин. Все они, кроме циклосерина, вызывают бактерицидный эффект.

Механизм действия таких антибиотиков, как хлорамфеникол, тетрациклины, стрептомицин, аминогликозиды, эритромицин, олеандромицин, спирамицин и другие макролиды, линкозамиды, фузидиевая кислота, связан с угнетением синтеза белка на уровне рибосом 708. Хотя бактериальные рибосомы 708 имеют такую же в принципе структуру, как рибосомы 808 эукариотных клеток, их белки и белковые факторы, участвующие в работе белоксинтезирующей системы, отличаются от таковых рибосом 808. Этим объясняется избирательность действия указанных антибиотиков на белковый синтез бактерий.

Разные антибиотики по-разному блокируют синтез белка. Тетрациклины блокируют связывание ат-РНК на А-участке рибосомы 708. Хлорамфеникол подавляет пептидилтрансферазную реакцию. Стрептомицины препятствуют превращению инициаторного комплекса в функционально активную рибосому. Эритромицин блокирует реакцию транслокации. Пуромицин, присоединяясь к растущему концу синтезируемой полипептидной цепи, вызывает преждевременное отделение ее от рибосомы. Механизм действия фторхинолонов связан с их избирательным подавлением бактериальных ферментов ДНК-гираз, участвующих в репликации ДНК. Фторхинолоны связываются со специфическими участками ДНК, которые создаются воздействием ДНК-гиразы, и подавляют ее активность.

Рифампицины угнетают активность ДНК-зависимых РНК-полимераз, вследствие чего у бактерий подавляются процессы транскрипции.

Активность противоопухолевых антибиотиков связана с тем, что они либо являются ингибитором синтеза ДНК (брунеомицин), либо подавляют активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы, т. е. блокирует транскрипцию (антрациклины, актиномицины, оливомицин).

Учёт результатов определения чувствительности выделенных из исследуемого материала микроорганизмов к антибиотикам проводится следующим способом: на рабочем столе находится чашка Петри, на которой был высеян выделенный из исследуемого материала микроб и были нанесены на равном расстоянии друг от друга диски с антибиотиками (методика этой работы изложена в практическом руководстве).

Студенту необходимо сделать вывод о степени чувствительности выделенной культуры к антибиотикам. Смысл данного исследования сводится к следующему: поверхность питательной среды на чашке смачивают взвесью выделенной чистой культуры в физ. растворе и таким образом достигается равномерное распределение культуры по всей чашке. «Поверх» посева накладываются диски с антибиотиками и чашки инкубируют в термостате. С дисков, пропитанных каждый отдельным антибиотиком, происходит диффузия антибиотиков в толщу агара. Чем чувствительнее культура к антибиотику, тем меньше его

эффективность концентрации и тем больше диаметр зоны задержки роста культуры вокруг определенного диска. При этом результат учитывается по следующей схеме (таблица).

Культура высокочувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий 30 и более мм.
Культура средне чувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий не менее 20 мм.
Культура слабо чувствительна	диаметр зоны угнетения роста бактерий не более 10 мм.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №11

Тема: Симбиоз. Резиденты и патогенны. Грибы-возбудители микозов.

Учебная цель:

1. Изучить этапы и факторы симбиоза человека с микробами.

4. Изучить микрофлору тела человека
5. Изучить грибы - возбудители микозови и микологический метод исследования

План занятия:

1. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.

2. Условия формирования ассоциации резидентов.

3.Отличия патогенов от резидентов.

4. Какими методами можно изучать микрофлору человека?

5. Состав резидентной микрофлоры кожных покровов человека.

Самостоятельная работа студентов:

1. Приготовление мазков из дрожжевых грибов, окрасить их простым методом (метиленовой синью) и микроскопировать.
2. Приготовление и микроскопирование нативных препаратов из культур плесневых грибов.
3. Просмотр и зарисовка демонстрационных препаратов:
   b) актиномицетов, окрашенных по Граму;
   б нативных препаратов из культур плесневых грибов (мукор, аспергилл, пеницилл);
   в дрожжевых грибов, окрашенных метиленовой синей;
4. Посев материала с пальцев рук на чашку с МПА (метод отпечатков).
5. Посев отделяемого из носа и зева на МПА.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для микробиологического исследования:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла
   Спиртовка -8шт.
   Флакон с физ.р-ром -8щт.
2. Набор красок:
   По Граму– 8 шт.
3. Микроскопы – 8 шт.
   Иммерсионное масло – 4 шт.
4. Чашки Петри с МПА, разделенные на сектора для посева отпечатков пальцев рук-4шт.
5. Чашки Петри с КА, для посева мазка из зева -4шт.
6. Демонстрация бакпрепаратов: эубиотики.
7. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Микроорганизмы находятся в различных взаимоотношениях друг с другом. Совместное существование двух различных организмов называется *симбиозом.* Различают несколько вариантов полезных взаимоотношений: метабиоз, мутуализм, комменсализм, сателлитизм.

Антагонистические взаимоотношения выражаются в виде неблагоприятного воздействия одного вида микроорганизма на другой, приводящего к повреждению и даже гибели последнего. Формы антагонизма: конкуренция, хищничество, паразитизм.

Микрофлора организма человека

Организм человека заселен примерно 500 видами микробов, составляющими его нормальную микрофлору, в виде сообщества микроорганизмов *(микробиоценоз)*. Они находятся в состоянии равновесия *(эубиоза)* друг с другом и организмом человека. Различают нормальную микрофлору различных биотопов: кожи, слизистых оболочек полости рта, верхних дыхательных путей, ЖКТ и мочеполовой системы. В организме выделяют постоянную и транзиторную микрофлору. *Постоянная* микрофлора представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в организме. *Транзиторная* микрофлора не способна к длительному существованию в организме. Постоянную микрофлору можно разделить на облигатную и факультативную. Облигатная микрофлора (бифидо-бактерии, лактобактерии, пептострептококки, кишечная палочка и др.) является основой микробиоценоза, а факультативная микрофлора (стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, клостридии, некоторые грибы и др.) включает меньшую часть микробиоценоза. Микроорганизмы, составляющие нормальную микрофлору, заключены в высокогидратированный экзополисахаридномуциновый матрикс, образуя биологическую пленку, устойчивую к различным воздействиям.

Протокол исследования

№	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

Грибы (Fungi, Mycetes) — разнородная группа эукариотических микроорганизмов. Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цито-плазматическую

мембрану (которая содержит фосфолипиды и стеролы) и мощную клеточную стенку, состоящую из глюкана, целлюлозы, хитина, белка, липидов и др. Грибы состоят из длинных тонких нитей (гиф), сплетающихся в грибницу, или мицелий. Гифы низших грибов — фикомицетов — не имеют перегородок. У высших грибов — эумицетов — гифы разделены перегородками; их мицелий многоклеточный. Грибы размножаются спорами, половым и бесполым способами, а также вегетативным путем (почкование или фрагментация гиф). Грибы, размножающиеся половым и бесполым путем, относятся к совершенным. Несовершенными называют грибы, у которых отсутствует или еще не описан половой путь размножения. Бесполое размножение осуществляется у грибов с помощью эндогенных спор, созревающих внутри круглой структуры — спорангия, и экзогенных спор — конидий, формирующихся на кончиках плодоносящих гиф.
Грибы можно разделить на 7 классов: хитридиомицеты, гифохитридиомицеты, оомицеты, зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты, дейтеромицеты. Подавляющее большинство грибов, вызывающие заболевания у человека (микозы), относятся к несовершенным грибам. Для диагностики микозов могут быть использованы микроскопические (культуральные), аллергические, серологические, биологические и гистологические методы исследования. Материалом для исследования могут быть гной, мокрота, пораженные волосы, ногти, чешуйки кожи, пунктаты костного мозга, лимфатических узлов, внутренних органов, кровь, желчь, испражнения, биоптаты тканей и т. п. Для окраски мазков чаще всего используют методы Грама, Циля-Нильсена, Романовского-Гимзы

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №12

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: «Общая вирусология. Основы генетики. Антибиотики. Симбиоз. Патогенные грибы».

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №13

Тема: Физиологические механизмы иммунитета. Реакции иммунитета (агглютинации и преципитации).

Учебная цель:
1. Изучит физиологические механизмы иммунитета.
2. Изучить серологические методы лабораторной диагностики.

План занятия

12. Антигены, их природа. Гаптены. Антигены бактерий.
13. Антитела, классификация. Структура иммуноглобулинов, основные классы.
14. Гуморальный и клеточный иммунный ответ
15. Серологические реакции, их сущность и механизм, практическое применение. Серодиагностика. Сероидентификация.

16. Реакция агглютинации, методы постановки, фазы реакций, практическое применение.
17. Реакция преципитации, способы постановки, практическое применение.
18. Диагностикумы, классификация, применение.
19. Диагностические сыворотки, получение и виды диагностических сывороток – агглютинирующие (адсорбированные и неадсорбированные, моно- и поливалентные), преципитирующие.
20. Демонстрация развернутой реакции агглютинации, реакции гемолиза.
21. Постановка реакции кольцепреципитации.
22. Демонстрация диагностикумов и диагностических сывороток.

Самостоятельная работа студентов:

4. Постановка и учет ориентировочной реакции агглютинации на предметном стекле с целью идентификации выделенной чистой культуры грамотрицательных палочек.
5. Постановка и учет развернутой реакции агглютинации с целью серодиагностики брюшного тифа.
6. Постановка и учет реакции термокольцепреципитации с целью сероиндикации сибирской язвы.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для микробиологического исследования:
   Штатив- 8 шт.
   Пинцет – 8 шт.
   Бактериологическая петля-8 шт.
   Лоток с подставкой - по 8шт.
   Предметные стекла.
   Спиртовка -8шт.
   Флаконы с физ. р-ром.-8шт.
2. Постановка и учет ориентировочной реакции агглютинации на предметном стекле с целью идентификации выделенной чистой культуры грамотрицательных палочек:
   Пробирка со скошенным агаром с ростом E.coli – 4 шт.
   Предметное стекло -4шт.
   Пробирка с поливалентной коли-сывороткой -4 шт.
3. Постановка и учет развернутой реакции агглютинации с целью серодиагностики брюшного тифа.
   Исследуемая сыворотка-8шт.
   Диагностикум «О» -2шт.
   Диагностикум «Н» - 2шт.
   Диагностикум «ОН (А)» -2 шт.
   Диагностикум «ОН(В)»- 2 шт.
   Пробирки чистые 8шт.- 8 наборов.
   Пробирки с физиологическим раствором - 8шт.
   Стерильные пипетки.
4. Постановка и учет реакции термокольцепреципитации Асколи с целью сероиндикации сибирской язвы.
   Пробирка с иммунной сывороткой- 4 шт.
   Пробирка с нормальной сывороткой – 4шт.
   Пробирка с физиологическим раствором -4шт.
   Преципитиноген -4шт.

Пастеровские пипетки -4шт.

5. Демонстрация: реакция Видаля.
6. Демонстрация реакции преципитации в геле по Оухтерлони.
7. Демонстрация бакпрпаратов: сыворотки, диагностикумы.
8. Демонстрация: РПГА.
9. Таблицы

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Под **иммунитетом** (от лат. immunitas — освобождение, избавление от чего-либо) в биологии и медицине понимают комплекс реакций организма, направленных на сохранение его структурной и функциональной целостности при воздействии на организм генетически чужеродных веществ, как поступающих извне, так и образующихся внутри организма.
Различают несколько основных видов иммунитета:

-*Наследственный иммунитет* (врождённый, видовой) обусловлен выработкой в процессе филогенеза генетически закрепленной невосприимчивости вида к данному антигену или микроорганизму.

-*Приобретенный иммунитет* специфичен и не передаётся по наследству. Он формируется естественно и создается искусственно. Естественный приобретенный иммунитет появляется после перенесённого инфекционного заболевания (оспа, корь и др.). Искусственный приобретенный иммунитет возникает при вакцинации.

Иммунитет бывает *активный* и *пассивный. Активный иммунитет* вырабатывается организмом в результате воздействия антигена на иммунную систему (например, при вакцинации). *Пассивный иммунитет* обусловлен антителами, передаваемыми от иммунной матери ребенку при рождении или путем введения иммунных сывороток, а также при пересадке иммунных клеток.

Активный иммунитет может быть *гуморальным* (обусловлен антителами), *клеточным* (обусловлен им-мунокомпетентными клетками) и *клеточно-гумораль-ным* (обусловлен и антителами, и иммунокомпетентными клетками). Например, антитоксический иммунитет к ботулизму и столбняку является гуморальным, так как он обусловлен антителами, циркулирующими в крови; иммунитет к лепре или туберкулезу — клеточный, а к оспе — клеточно-гуморальный.

Различают также иммунитет *стерильный,* сохраняющийся в отсутствие микроорганизма, и *нестерильный,* который существует только при наличии возбудителя в организме. Классическим примером нестерильного иммунитета является иммунитет при туберкулезе.

Отдельно выделяют так называемый *местный иммунитет,* который защищает отдельные участки организма, например, слизистые оболочки от возбудителей инфекционных болезней. Он формируется при участии секреторного иммуноглобулина А и характеризуется более активным фагоцитозом.

Антигены — это любые генетически чужеродные для данного организма вещества (обычно биополимеры), которые, попав во внутреннюю среду организма или образуясь в организме, вызывают ответную специфическую иммунологическую реакцию: синтез антител, появление сенсибилизированных лимфоцитов или возникновение толерантности к этому веществу, гиперчувствительности замедленного или немедленного типов, иммунологической памяти.

Антигены обладают специфичностью, которая связана с определённой химической группой в составе молекулы, называемой детерминантой, или эпитопом. Детерминанты антигена — это те его части, которые распознаются антителами и иммунокомпетентными клетками.

Различают *полноценные* и *неполноценные (гаптены) антигены.* Антигены, вызывающие полноценный иммунный ответ, имеющие 2 и более детерминанты, называются *полноценными.* Это органические вещества микробного, растительного и животного

происхождения. *Гаптенами* могут быть химические вещества с малой молекулярной массой или более сложные химические вещества, не обладающие свойствами полноценного антигена: некоторые бактериальные полисахариды, полипептид туберкулёзной палочки (РРД), ДНК, РНК, липиды, пептиды. *Гаптены* из-за небольшой молекулярной массы не фиксируются иммунокомпетентыми клетками макроорганизма и не могут вызвать ответную иммунологическую реакцию. *Полугаптены* — неорганические радикалы (йод, бром, нитрогруппа, азот и др.), присоединившиеся к белковой молекуле, могут менять иммунологическую специфичность белка.

Антителообразование. В ответ на введение антигена иммунная система вырабатывает антитела — белки, способные специфически соединяться с антигеном, вызвавшим их образование и, таким образом, участвовать в иммунологических реакциях. Относятся антитела к у-глобулинам, т. е. наименее подвижной в электрическом поле фракции белков сыворотки крови. В организме у-глобулины вырабатываются особыми клетками — плазмоцитами. В соответствии с Международной классификации у-глобулины, несущие функции антител, получили название иммуноглобулинов и обозначаются символом lg. Следовательно, антитела — это иммуноглобулины, вырабатываемые в ответ на введение антигена и способные специфически взаимодействовать с этим же антигеном.

Функции антител. Первичная функция антител состоит во взаимодействии их активных центров с комплементарными им детерминантами антигенов. Вторичная функция антител состоит из их способности:

- связывать антиген с целью его нейтрализации и элиминации из организма;
- участвовать в распознавании «чужого» антигена;
- обеспечивать кооперацию иммунокомпетентных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов);
- участвовать в различных формах иммунного ответа (фагоцитоз, киллерная функция, иммунологическая толерантность, иммунологическая память, гиперчувствительность немедленного типа, гиперчувствительность замедленного типа).

Белки иммуноглобулинов по химическому составу относятся к гликопротеидам, так как состоят из протеина и сахаров; построены из 18 аминокислот. Различают 5 классов иммуноглобулинов: IqM, IgG, IgA, IgE,IgD. Иммуноглобулины М, G, А имеют подклассы. Например, IgG имеет четыре подкласса (IgGl, IgG2, IgG3, IgG4).

Иммунологической памятью называют способность организма при повторной встрече с одним и тем же антигеном реагировать более активным и более быстрым формированием иммунитета, т.е. реагировать по типу вторичного иммунного ответа.

Иммунологическая толерантность явление противоположное иммунологической памяти. В этом случае в ответ на повторное введение антигена организм вместо энергичной выработки иммунитета проявляет ареактив-ность, не отвечает иммунной реакцией, т. е. толерантен антигену.

I. Реакция агглютинации на предметном стекле

Нанести на предметное стекло на достаточном расстоянии друг от друга три капли: физиологического раствора, брюшнотифозной агглютинирующей сыворотки (№ 1) и дизентерийной агглютинирующей сыворотки (№ 2). Исследуемую культуру внести в каплю физиологического раствора и тщательно растереть в ней до появления выраженного помутнения. Бактериальной петлей подготовленную взвесь перенести в сыворотку № 1 и тщательно перемешать. Далее бактериологическую петлю необходимо простерилизовать прокаливанием. Затем взять бактериальной петлей материал из взвеси культуры в капле физиологического раствора и внести ее в каплю сыворотки № 2. Стекло слегка и осторожно покачивать для тщательного перемешивания. Учет результатов реакции производят спустя 1-2 минуты: в капле физиологического раствора сохраняется равномерное помутнение, тогда как в капле одной из сывороток отмечается агглютинация. Признаками агглютинации являются: выпадение зерен агглютината и просветление жидкости. В случае обнаружения в

контрольной капле с физиологическим раствором спонтанной агглютинации результаты реакции не подлежат дальнейшему учету, а сама реакция требует повторной постановки.

II. Развернутая реакция агглютинации

Развернутая реакция агглютинации поставлена с целью определения титра антител в сыворотке крови больного.

Исследуемая сыворотка разводится физиологическим раствором в 50 раз, и полученное таким образом разведение (1:50) считается исходным. Далее исходное разведение сыворотки последовательно двукратно разводится физиологическим раствором. Для этого (см. схему постановки):

а) во все агглютинационные пробирки, кроме № 6, вносятся по 1,0 мл физиологического раствора;

б) в пробирку № 1 и № 6 вносится по 1,0 мл сыворотки в исходном разведении 1:50, и, таким образом, сыворотка в пробирке № 1 разводится еще вдвое, то есть в 100 раз;

в) 1,0 мл сыворотки из пробирки № 1 переносится в пробирку № 2 к имеющимся в ней 1,0 мл физиологического раствора, вследствие чего сыворотка разводится еще вдвое, то есть в 200 раз, и так далее, вплоть до пробирки № 5, где разведение достигает 1:1600;

г) очевидно, что в пробирках № 1 -№ 4 содержится по 1,0 мл сыворотки, тогда как в пробирке № 5 содержится 2,0 мл ее — избыточные 1,0 мл удаляются, и, таким образом, объемы в опытных пробирках № 1 — № 5 уравниваются. В пробирке № 6 осуществляется контроль сыворотки. Далее в каждую пробирку, за исключением пробирки № 6, вносят по 2 капли ДИАГНОСТИКУМА — обработанной формалином взвеси в физиологическом растворе клеток культуры Salmonella typhi, в каждом миллилитре которой содержится 2 миллиарда бактериальных тел. Штатив с пробирками встряхивают и помещают в термостат при t 37°С на 2 часа. После выдержки в термостате штатив с реакцией выдерживают при комнатной температуре или «на холоду» (+3° +5°С) в течение 18 часов.

Компоненты реакции	Опыт					сыворотки	диагностикума
	1	2	3	4	5	6	7
1. Физ. Раствор	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
2. Исследуемая сыворотка (1:50); мл	1,0 1:100	1,0 1:200	1,0 1:400	1,0 1:800	1,0 1:1600	1,0 1:100	1,0
3. Диагностикум, капли	2	2	2	2	2	-	2

Учет результатов производят через сутки в следующей последовательности: в первую очередь оценивают состояние контрольных пробирок (№6 и №7), во вторую очередь —опытных. В пробирке №6 (контроль сыворотки) должна быть абсолютно прозрачная, лишенная какого-либо осадка жидкость. В пробирке №7 (контроль диагностикума) —равномерное помутнение. Результаты опытных пробирок следует оценивать, начиная с пробирки с наибольшим разведением сыворотки (№5). Результат реакции учитывается по выпадению на дно пробирки хлопьев агглютината и одновременному просветлению содержимого пробирки; при легком постукивании по стенке пробирки или осторожном встряхивании агглютинат легко отделяется от дна, всплывает и, не изменяя своей структуры, возвращается в исходное положение.

III. Реакция кольцепреципитации

Реакция преципитации используется чаще всего для определения наличия в материале растворимых антигенов. В контрольную преципитационную пробирку, приблизительно до

половины ее объема вносится нормальная сыворотка. В опытную пробирку вносится то же количество преципитирующей сыворотки. Далее в каждую пробирку вносится небольшое количество исследуемого материала — например, экстракта из шкуры животного (овцы), погибшей предположительно от сибирской язвы. Исследуемый материал следует вносить путем осторожного наслаивания на внутреннюю стенку преципитационной пробирки, удерживаемой в руке на высоте 30-35 см от поверхности рабочего стола под углом 45° к горизонтали.

В опытной пробирке на границе сыворотки и исследуемого материала наблюдается образование преципитата: белесоватого «диска», необратимо разрушающегося при встряхивании пробирки. В контрольной пробирке образования преципитата не наблюдается.

IV. Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РИТА)

РПГА основана на использовании эритроцитов с адсорбированными на их поверхности антигенами (эритроцитарный диагностикум), взаимодействие которых с соответствующими антителами сыворотки крови больных вызывает выпадение эритроцитов в осадок на дно пробирки (лунки) в виде «раскрытого зонтика».

Исследуемую сыворотку больного разводят в 10 раз и прогревают при 65°С 20 минут на водяной бане для удаления неспецифических гемагглютининов, затем готовят ряд ее разведений от 1:100 до 1:3200 и разливают в лунки по 0,5 мл. В каждую лунку добавляют по 0,5 мл диагностикума. В каждый ряд лунок добавляется соответствующий эритроцитарный диагностикум: к шигеллам Зонне, Флекснера, Ньюкастла и поливалентный сальмонеллезный.

Одновременно ставят контроли диагностикумов и контроль исследуемой сыворотки. Результат реакции учитывают после инкубации в термостате в течение 2 часов при 37°С или при комнатной температуре в течение 1824 часов. Реакция считается положительной при условии расположения эритроцитов в виде «зонтика» по всей поверхности дна лунки и оценивается как «+».

Схема постановки

Разведение исследуемой сыворотки	ДИАГНОСТИКУМЫ				КОНТРОЛЬ				
	Зонне	Флекс-нер	Нью-кастл	Саль-мон. поливал.	Кд 1	Кд 2	Кд 3	Кд 4	Кс
1:100									
1:200									
1:400									
1:800									
1:1600									
1:3200									
Инкубация при t 37^0 С; 24 часа.									
Учет результатов									

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №14

Тема: Серологические реакции. Реакции иммунитета с участием комплемента. Реакции иммунитета с меченными компонентами.

Учебная цель:
1.Изучить комплементзависимые серологические реакции,
2. Изучить реакции иммунитета с меченными компонентами.

План занятия:

7. Реакции иммунного лизиса, компоненты.
8. Реакция гемолиза.
9. Реакция связывания комплемента (РСК). Постановка и учет реакции связывания комплемента.
10. Реакция иммунофлюоресценции, прямая и непрямая.
11. Иммуноферментный анализ, компоненты, применение.
12. Радиоиммунный анализ, компоненты, применение.

Самостоятельная работа студентов:

1.Постановка и учет реакции связывания комплемента с целью серодиагностики сифилиса

ОСНАЩЕНИЕ

1.Постановка реакции связывания комплемента с целью серодиагностики сифилиса:
Исследуемая сыворотка-8шт.
Кардиолипиновый антиген -8шт.
Комплемент 1,0-4 шт.
Пробирка с физ.р-ром 4,0 – 4 шт.
Пробирка с взвесью эритроцитов барана -8шт.
Пробирка с гемолитической сывороткой -8шт.
Чистые пробирки 2 шт. – 8 наборов.
Пипетки стерильные.
Термостат.
2. Демонстрация: РСК, ИФА.
3. Демонстрация РИФ.
4. Демонстрация бакпрепаратов: антиген, комплемент, гемолизин, иммунофлюоресцентные сыворотки;
5. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ:

Принципиальная схема постановки реакции связывания комплемента

Компоненты реакции	№ пробирки		
	1(опыт)	2 (контр.)	3 (контр.)

1. Исследуемая сыворотка (1:5)	0,5	0,5	-
2. Антиген в рабочей дозе	0,5	-	0,5
3Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4.Физиологический раствор	-	0,5	0,5
Инкубация при t 37^0 С — 40 минут.			
5. Гемолитическая система (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка)	1,0	1,0	1,0

Инкубация при t 37^0С — 40 минут.

Учет результатов _____ Гемолиз + Гемолиз +

Вывод:

При наличии антител в исследуемой сыворотке (положительная реакция) в опытной пробирке гемолиз отсутствует. При отрицательной реакции (нет антител) во всех трех пробирках наблюдается гемолиз.

Реакция связывания комплемента проходит в две фазы: 1-ая фаза — взаимодействие исследуемой сыворотки с антигеном и комплементом. 2-ая фаза — индикаторная — определение наличия в смеси свободного комплемента путем добавления гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к эритроцитам барана. Если в первой фазе реакции происходит образование комплекса антиген-антитело, комплемент связывается этим комплексом и во второй фазе гемолиз эритроцитов отсутствует (реакция положительная). Если антиген и антитело не соответствуют друг другу, комплемент в первой фазе реакции остается свободным и во второй фазе реакции присоединяется к комплексу эритроцит-гемолитическая сыворотка, вызывая гемолиз (реакция отрицательная).

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №15

Тема: Иммунный статус.

Учебная цель:
1.Изучить тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.

Студент должен знать:

1 Возрастные особенности иммунного статуса.
2. Методы исследования лимфоцитов, оценку функционального состояния фагоцитов,

Студент должен уметь:
1. Постановить и учесть функциональне состояние фагоцитов,
2. Определить активность комплемента крови

План занятия:
1. Иммунный статус и принципы его оценки.
2. Возрастные особенности иммунного статуса.
3. Методы исследования лимфоцитов, оценка функционального состояния фагоцитов,
4. Определение комплемента
6. Тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.

Самостоятельная работа студентов:
1.Постановка и учет функционального состояния фагоцитов,
2. Определение комплемента

ОСНАЩЕНИЕ
1. Иммунограммы
2. Мазки с фагоцитозом

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

Созревание иммунной реактивности плода

Тимус закладывается на втором месяце внутриутробной жизни в области третьего-четвертого жаберных карманов и на шестой неделе имеет выраженный эпителиальный характер. На 7—8 неделе он «заселяется» лимфоцитоподобными клетками. К концу третьего месяца формирование органа заканчивается. В дальнейшем в тимусе наблюдаются лишь количественные изменения. Лимфатические узлы и другие вторичные органы иммунной системы закладываются на 4-м месяце, их окончательное формирование завершается в постнатальном периоде. Лимфоидные фолликулы, располагающиеся в подвздошной кишке и аппендиксе, в пейеровых бляшках, содержат «клетки предшественники» плазматических клеток. Они дозревают до плазматических клеток, синтезирующих IgA к 14—16 неделе внутриутробного развития плода.

Стволовые клетки появляются на 3—8 неделях эмбриогенеза и обнаруживаются в печени, кровяных островках желточного мешка. Позднее главным их местом образования становится костный мозг. Лимфоциты впервые обнаруживаются на 9 неделе в тимусе, на 12— 15 — в селезёнке. В крови лимфоцитоподобные клетки определяются с 8—10 недели. Лимфоидные клетки, наделенные функцией Т-лимфоцитов, выявляются на 10—11 неделе. В-клетки определяются в печени с 10— 12, в селезёнке — с 12 недели. Синтез и секреция IgM регистрируется в клетках на 11-й, IgG- на 22-ой неделе. Содержание IgM составляет 1/10 от

материнского, а IgG — ещё меньше. Образование компонентов системы комплемента начинается у плода на 8-ой неделе беременности. При этом компоненты С2 и С4 синтезируются макрофагами, С5 и С4 — в печени, лёгких, перитоне-альных клетках, С3 и С1 — в тонкой и толстой кишке. На 18-ой неделе развития все указанные компоненты определяются в сыворотке крови плода. Клеточные и гуморальные факторы неспецифической антиинфекционной невосприимчивости появляются в раннем онтогенезе.

В период эмбрионального развития «работа» иммунной системы имеет свои особенности. В частности, среди Т-зависимых иммунологических реакций первой проявляется способность к отторжению трансплантата (13 неделя), ГЗТ реализуется значительно позднее.

Несмотря на наличие в организме плода значительного количества В-клеток с иммуноглобулиновыми рецепторами, плазматических клеток, непосредственно синтезирующих АТ, очень мало. Ряд очень мощных факторов супрессирует функцию гуморального звена иммунной системы. Это хориотропный гонадотропин, а-фетопроте- ин, а-2-глобулин. Резко ограничено в этот период влияние на В-клет- ки Т-лимфоцитов и макрофагов.

Преждевременная активация иммунной системы наблюдается при внутриутробном инфицировании. Практически всегда это сопровож¬дается какими-либо иммунопатологическими расстройствами. Таким образом, для эмбрионального периода типичным этапом иммуногенеза является толерантность собственной иммунной системы и пассивный антительный иммунитет за счет материнских IgG, концентрация которых прогрессивно нарастает в процессе беремен¬ности. Способность плода образовывать компоненты системы ком¬племента неполноценна. В III триместре её уровень хотя и возраста¬ет, но составляет не более 30—50% показателей взрослых. Система местного иммунитета в раннем и позднем онтогенезе не развита.

Иммунный статус у детей после рождения

Здоровый доношенный ребёнок, рожденный здоровой матерью с физиологическим течением беременности, имеет определённый иммунный статус и соответствующий уровень факторов неспецифической антиинфекционной резистентности. Своеобразный характер пассивного иммунитета новорождённого имеет положительные и отрицательные стороны. Так, не получая от матери IgM, плод не насыщается связанными с этим классом групповыми изогемагглютининами, что снижает риск развития конфликта при несовпадении групповых эритроцитарных Аг. С другой стороны индуцируется низкая защита против грамотрицательных бактерий, поскольку в этой фракции преимущественно находятся АТ против указанных возбудителей. В момент рождения у ребенка наблюдается физиологический лейкоцитоз, доходящий до 12—15 млрд кл\л. Из клеток более 35% составляют лимфоциты. Из общего числа лимфоцитов около половины составляют Т-клетки. В относительных величинах их содержание умеренно снижено, а в абсолютных, учитывая высокий лейкоцитоз, не изменено. Около 60% всех Т-лимфоцитов составляют клетки с хелперными функциями, 15% — Т-супрессоры.

Содержание антителозависимых киллеров также сильно снижено от уровня взрослых. Функции лимфоцитов новорождённых изменены. Так, интенсивность реакции бластной трансформации, индуцированной Т-митогеном ФГА, «нормальна» или несколько снижена, чем у более старших детей. Уменьшена их способность продуцировать лимфоциты,

индуцировать кожные реакции. В то же время в клетках отмечается более высокий уровень метаболизма, если судить по интенсивности синтеза нуклеиновых кислот.

Количество В-клеток у новорождённых обычно повышено в относительных и абсолютных значениях. Как правило, на этих клетках обнаруживаются IgM и IgE рецепторы. В пуповинной крови новорождённых определяются IgM и IgG, IgA и IgE обнаруживаются крайне редко. Синтез IgM резко возрастает, достигая максимума на 2—3 нед жизни ребенка,

затем к месячному возрасту снижается, в дальнейшем медленно возрастает, достигая к 6—12 мес уровня взрослых. Чрезмерное увеличение концентрации IgM у новорождённых является свидетельством перенесенного внутриутробного инфицирования. Чаще всего это сифилис, краснуха. Повышение уровня IgM в три раза является свидетельством наличия сепсиса у ребенка.

Концентрация IgG весьма незначительна при рождении, возрастает к 7—8 годам. У детей, вскармливаемых искусственно, эта динамика реализуется значительно быстрее. IgA в сыворотке крови новорождённых, как правило, отсутствуют в течение первого месяца жизни. В дальнейшем содержание иммуноглобулина медленно нарастает, составляя к концу первого года 28% от уровня этого белка у взрослых. Нормализация параметра достигается к 8—15 годам. IgD у новорождённых обычно не определяется. Появляется этот белок примерно на 6-й нед, достигая уровня взрослых к 5—10—15 годам. IgE также не обнаруживается у новорождённых, постепенно нарастая, он приближается к значениям взрослых людей к 11—12 годам. Ускорение накопления реагина является риском развития у детей бронхиальной астмы и других аллергических и особенно атопических заболеваний.

Известно, что содержание иммуноглобулинов определяется суммой АТ различной специфичности. Раньше других у детей появля-иммунных глобулинов оказывает влияние микрофлора организма ребёнка. Основным представителем кишечной микрофлоры в этот

период являются бифидумбактерии. Поэтому любые неблагоприятные факторы (искусственное вскармливание, применение антибиотиков) неизбежно влекут за собой нарушение видового состава микрофлоры и изменения спектра образующихся АТ. Антителообразование у новорождённых, как правило, протекает только по первичному типу, требующему для реализации большого количества Аг. Значительно замедлено переключение синтеза с IgM на IgG, в течении 5—20 дней у взрослых и 20—40 — у детей.

В момент рождения фагоциты и сыворотка крови новорождённых обладают определённой бактерицидной активностью против ряда микробных штаммов. Хемотаксис и функциональная активность макрофагов уменьшена. Частично это компенсируется увеличением содержания гранулоцитов, так же наделённых фагоцитирующей функцией. Однако, переваривающая способность этих клеток снижена за счёт незрелости ферментов.

Ребёнок рождается со сниженными, по сравнению со взрослыми, уровнями комплемента и пропердина, которые довольно быстро нарастают. Исходная активность лизоцима, напротив, значительна.

Содержание лизоцима в организме непостоянно, зависит от возраста, времени года, витаминного баланса и др. Больше всего лизоцима в слюне детей (до 200 мкг/мл), что во много раз превышает его концентрацию в сыворотке крови. Наиболее высокое содержание лизоцима в слюне детей первого года жизни, в возрасте 1—6 лет оно снижается почти в 3 раза, к 7—15 годам возрастает, но не достигает исходного уровня. Важным фактором местного иммунитета является IgA, который находится в двух формах — сывороточной и секреторной. Этот у-глобулин играет основную роль в резистентности организма против респираторной, вирусной, бактериальной, паразитарной инфекции и т.д. Секреторный IgA начинает обнаруживаться в секретах первой и начале второй недель, продолжает прогрессивно нарастать в последующие месяцы и годы, в копрофильтрах обнаруживается с третьей недели жизни. Количество секретина постоянно пополняется за счет секреторного IgA молока и, особенно, молозива, где его количество в 20 раз и более превосходит уровень в сыворотке взрослого. Обычно после 3—5 дней лактации концентрация IgA резко снижается, но, учитывая возрастающее потребление молока ребенком, его количестваПлазматические клетки, расположенные в слизистых оболочках, образуют IgA, IgM, IgG, IgD, IgE. Стенка кишечника синтезирует до 3 г иммуноглобулинов в сутки. IgG обеспечивают защиту в

основном против токсинов, остальные против бактерий и вирусов. Формирование полноценного местного иммунитета по разным данным завершается к одному-двенадцати годам жизни.

Соотношение плазматических клеток желудочно-кишечного трака, продуцирующих иммунные глобулины, при некоторых заболеваниях меняется. Так, у детей раннего возраста (от рождения и до трех лет) с хроническим гастродуоденитом наблюдается дефицит IgA и

увеличение продукции IgM. У пациентов с холециститом отмечается уменьшение концентрации IgA и увеличение IgM или IgG. При язвенной болезни 12-перстной кишки происходит падение уровня IgA в дуоденальном содержимом. Дефицит местного IgA облегчает связывание иммунных глобулинов других классов с Аг.

Местный иммунитет обусловливается не только гуморальными, но и клеточными факторами. Показано, что в первые 24 часа после рождения ребенка происходит резкое повышение количества альвеолярных макрофагов. Их число продолжает увеличиваться до месячного

возраста, после чего стабилизируется. Микробоцидные свойства макрофагов и других фагоцитирующих клеток, как правило, отстают у детей первых недель и даже месяцев жизни.

Состояние иммунной системы ребенка в первые годы жизни характеризуется высокой динамичностью. Так, после рождения снижается число лейкоцитов в циркуляции, повышается процентное содержание лимфоцитов, уменьшается количество гранулоцитов.

Перекрест между кривыми, отражающими динамику этих клеток, впервые происходит на 5 сутки жизни, после чего аналогичный перекрест (снижение удельного веса лимфоцитов и повышение нейтрофилов) отмечается только в возрасте 4—5 лет. Очень медленно

повышается относительное содержание Т-клеток, уровень В-лимфоцитов неуклонно снижается до нормы.

Таким образом, для эмбрионального периода типичной является толерантность и пассивный иммунитет за счет материнских IgG, концентрация которых нарастает в процессе беременности. У новорождённого также доминирует материнский пассивный иммунитет, хотя уже отмечается начало синтеза собственных АТ, наделённых малой12 месяцев иммунная реактивность созревает. В возрасте 1—3 лет отчетливо работает Т-клеточный иммунитет. В этот же период активно функционируют и В-лимфоциты.

Из изложенного следует, что организм новорождённого вплоть до годичного возраста плохо защищен от инфекционных агентов. Действует главным образом гуморальное звено иммунитета. Т-зависимые реакции и фагоцитоз развиты недостаточно и вступают в полную силу позднее. Иногда лишь к периоду полового созревания. Учитывая все эти сведения назначение детям иммунотропных средств должно производиться крайне осторожно, чтобы не извратить естественные особенности реагирования, приняв за иммунные расстройства физиологические изменения иммунных реакций.

При многих заболеваниях у детей в патологический процесс рано вовлекаются печень и селезёнка. Эти органы во внутриутробном периоде осуществляют гемо- и лимфопоэз. Поэтому в ответ на повреждение или инфицирование плод отвечает активизацией ретикулоэндотелиальной системы. После рождения её значимость падает, заменяясь более совершенными механизмами. Однако, у части так называемых «медленно стартующих детей» с задержкой созревания иммунной системы возможна реакция на патогенную ситуацию указанных органов. В настоящее время в жизни ребенка выделяют несколько критических периодов, которые характеризуются наибольшей ранимостью организма (Д.В. Стефани, Ю.Е. Вельтищев,1996). Во внутриутробном периоде критическим следует считать

возраст 8—12 нед, когда происходит дифференцировка органов и клеток иммунной системы. Первым критическим периодом после рождения является периодноворождённое™, когда организм подвергается действию огромного числа Аг. Иммунная система в это время подвержена сильным супрессорным влияниям, пассивный гуморальный иммунитет обусловлен материнскими АТ. Отмечается функциональный дисбаланс Т-лимфоцитов, супрессорную функцию реализуют не только CD8+-клетки, но и незрелые тимоциты и другие клетки.

Второй критический возраст (3—6 мес) характеризуется ослаблением пассивного гуморального иммунитета в связи с катаболизмом материнских АТ. При этом супрессорная направленность иммунных пеякттий сохоаняется пои наличии выраженного лимфоцитоза. Такой тип иммунного ответа наступает при вакцинации против столбняка, дифтерии, коклюша, полиомиелита, кори и только после 2-3-й ревакцинации развивается вторичный иммунный ответ с образованием IgG АТ и стойкая иммунная память.

Третий критический период — 1-й год жизни. В это время сохраняется первичный характер иммунного ответа на многие Аг, однако уже возможно переключение на образование IgG-АТ. Однако синтез субклассов IgG2 и lgG4 запаздывает. Супрессорная направленность иммунных механизмов начинает сменяться хелперной. Система местного иммунитета не развита, дети чувствительны к респираторным вирусным инфекциям. Четвертый критический период — 4—6-й годы жизни. В этом возрасте средняя концентрация IgG и IgM в крови соответствует таковой у взрослых, концентрация IgA в плазме еще не достигает окончательных значений, содержание IgE в крови достигает максимальных величин. Данный период характеризуется высокой частотой атопи-ческих, паразитарных, иммунокомплексных заболеваний.

Пятый критический период — подростковый возраст (у девочек с 12—13, у мальчиков с 14—15 лет). Пубертатный скачок роста сочетается с уменьшением массы лимфоидных органов. Повышение секреции половых гормонов (прежде

всего андрогенов) ведет к подавлению клеточного звена иммунитета и стимуляции его гуморальных механизмов. В целом у детей встречаются следующие особенности звеньев иммууного статуса. Т — звено иммунитета. Количество лимфоцитов периферической крови при рождении в первые сутки жизни составляет 24—30%, а абсолютное число — 3—9 • Ю'/л. Затем их относительное количество нарастает и к 4—5-м суткам достигает 40—50%, абсолютное — 2,5— 10 млрд/л.

Лимфоциты новорождённых отличаются высокой метаболической активностью, в них увеличен синтез ДНК и РНК. БТЛ при культивировании с ФГА хорошо выражена как у доношенных, так и у недоношенных новорождённых. Отмечается высокий уровень спонтанной трансформации, в среднем около 6—10%, тогда как у взрослых этот показатель составляет около 0,2%. В — звено иммунитета. Система гуморального иммунитета в отличие от клеточного начинает активно функционировать лишь после рождения под влиянием антигенного раздражения. При рождении ребёнка содержание IgG в его крови обычно больше, чем у матери,так как трансплацентарный переход этого иммуноглобулина является активным процессом. IgM в сыворотке обычно отсутствуют или определяются в минимальных количествах. IgA обычно отсутствуют или находятся в следовых концентрациях. К концу первой недели содержание IgA и IgM несколько возрастает, IgG — ко 2—3-й неделе заметно снижается и достигает минимальных концентраций в возрасте 1—4 мес.

Фагоцитарное звено. Число нейтрофилов в крови при рождении относительно велико: 50—70% и 4,5—20 млрд/л. С 4-х суток оно начинает снижаться до 30—40% — 2,5—6 млрд/л. Моноциты в течении всего периода новорождённое™ составляют 4—9 % — 0,6—2 млрд/л. Поглотительная способность нейтрофилов новорождённых не снижена, однако переваривающая активность снижена, что приводит к незавершённому фагоцитозу. Число

НСТ-положительных нейтрофилов в спонтанной реакции у детей первых 2 нед жизни составляет 14— 20%, тогда как у более старших детей — 2—10%. Подъем числа этих клеток в индуцированном тесте невысок, т.е. фагоцитарный резерв клеток у детей в возрасте двух недель невелик. Моноциты новорождённых характеризуются низкой бактерицидной активностью и недостаточной миграционной способностью.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 30 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 30 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №16

Тема: Иммунодефициты
Учебная цель:
1.Изучить патогенез вторичных иммунодефицитов
2.Изучить генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
3. Изучить врожденные иммунодефициты

План занятия

5. Генетика иммунодефицитов, особенности наследования.
6. Врожденные иммунодефициты (классификация, диагностика)
7. Врожденные иммунодефициты у детей.
8. Вторичная иммунологическая недостаточность (ВИН) – классификация, этиология, диагностика

Самостоятельная работа студентов:

1.Оценить и итнерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности по готовым иммунограммам

ОСНАЩЕНИЕ
1.Готовые иммунограммы
2.Ситуационные задачи
3.Таблицы

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

Иммунодефициты (ИДС) — нарушения иммунологической реактивности, обусловленные выпадением одного или нескольких компонентов иммунного аппарата или тесно взаимодействующих с ним неспецифических факторов.
Единой классификации не существует. По происхождению иммунодефициты делят на первичные и вторичные.Содержание [убрать]
1 Первичные иммунодефициты
1.1 Определение и классификация
1.2 Клиническая картина ИДС
1.3 Лечение первичных ИДС
2 Вторичные иммунодефициты

2.1 Причины
2.2 Лечение вторичных ИДС
Определение и классификация
Первичные иммунодефициты — это врожденные (генетические или эмбриопатии) дефекты иммунной системы. В зависимости от уровня нарушений и локализации дефекта они бывают:
гуморальные или антительные — с преимущественным поражением системы В-лимфоцитов)
Х-сцепленная агаммаглобулинемия (болезнь Брутона)
Гипер-IgM синдром
Х-сцепленная
аутосомно-рецессивная
делеция генов тяжелых цепей иммуноглобулинов
дефицит k-цепей
селективный дефицит субклассов IgG с или без дефицита IgA
дефицит антител с нормальным уровнем иммуноглобулинов
общая вариабельная иммунная недостаточность
дефицит IgA
клеточные
синдром Ди Джоржи
первичный дефицит CD4 клеток
дефицит CD7 Т-клеток
дефицит ИЛ-2
множественная недостаточность цитокинов
дефект передачи сигнала
комбинированные:
синдром Вискотта-Олдрича
атаксия-телеангиоэктазия (синдром Луи-Бар)
тяжелая комбинированная иммунная недостаточность
Х-сцепленная с полом
аутосомно-рециссивная
дефицит аденозиндезаминазы
дефицит пуриннуклеозидфосфорилазы
дефицит молекул II класса MHC (синдром лысых лимфоцитов)
ретикулярная дизгенезия
дефицит CD3γ или CD3ε
дефицит CD8 лимфоцитов
недостаточность системы комплемента
дефекты фагоцитоза
наследственные нейтропении
инфантильный летальный агранулоцитоз (болезнь Костмана)
циклическая нейтропения
семейная доброкачественная нейтропения
дефекты фагоцитарной функции
хроническая гранулематозная болезнь
Х-сцепленная
аутосомно-рециссивная
дефицит адгезии лимфоцитов I типа
дефицит адгезии лейкоцитов 2 типа
дефицит глюкозо-6-дегидроегназы нейтрофилов
дефицит миелопероксидазы
дефицит вторичных гранул

синдром Швахмана
Клиническая картина ИДС
Клиника имеет ряд общих черт:
1. Рецидивирующие и хронические инфекции верхних дыхательных путей, придаточных пазух, кожи, слизистых оболочек, желудочно-кишечного тракта, часто вызываемые оппортунистическими бактериями, простейшими, грибами, имеющие тенденцию к генерализации, септицемии и торпидные к обычной терапии.
2. Гематологические дефициты: лейкоцитопении, тромбоцитопении, анемии (гемолитические и мегалобластические).
3. Аутоиммунные расстройства: СКВ-подобный синдром, артриты, склеродермия, хронический активный гепатит, тиреоидит.
4. Нередко ИДС сочетается с аллергическими реакциями 1 типа в виде экземы, отека Квинке, аллергическими реакциями на введение лекарственных препаратов, иммуноглобулина, крови.
5.Опухоли и лимфопролиферативные заболевания при ИДС встречаются в 1000 раз чаще, чем без ИДС. [1]
6. У больных с ИДС часто отмечаются расстройства пищеварения, диарейный синдром и синдром мальабсорбции.
7. Больные с ИДС отличаются необычными реакциями на вакцинацию, а применение у них живых вакцин опасно развитием сепсиса.
8. Первичные ИДС часто сочетаются с пороками развития, прежде всего с гипоплазией клеточных элементов хряща и волос. Кардиоваскулярные пороки описаны, главным образом, при синдроме Ди-Джоржи.
[править]
Лечение первичных ИДС
Этиотропная терапия заключается в коррекции генетического дефекта методами генной инженерии. Но такой подход является экспериментальным. Основные усилия при установленном первичном ИДС направлены на:
профилактику инфекций
заместительную коррекцию дефектного звена иммунной системы в виде трансплантации костного мозга, замещения иммуноглобулинов, переливания нейтрофилов.
заместительную терапию ферментами
терапию цитокинами
витаминотерапию
лечение сопутствующих инфекций
Вторичные иммунодефициты
Факторы, способные вызвать вторичный иммунодефицит, весьма разнообразны. Вторичный иммунодефицит может быть вызван как факторами внешней среды, так и внутренними факторами организма. В целом, все неблагоприятные факторы окружающей среды, способные нарушить обмен веществ организма, могут стать причиной развития вторичного иммунодефицита. К наиболее распространенным факторам окружающей среды, вызывающим иммунодефицит относятся загрязнения окружающей среды, ионизирующее и СВЧ излучение, острые и хронические отравления, длительный прием некоторых лекарственных препаратов, хронический стресс и переутомление. Общей чертой описанных выше факторов является комплексное негативное воздействие на все системы организма, в том числе и на иммунную систему. Кроме того, такие факторы как ионизирующее излучение оказывают избирательное ингибирующее действие на иммунитет связанное с угнетением системы кроветворения. Люди, проживающие или работающие в условиях загрязненной окружающей среды, чаще болеют различными инфекционными заболеваниями и чаще страдают онкологическими болезнями.

Очевидно, что такое повышение заболеваемости у этой категории людей связано со снижением активности иммунной системы.

Причины

Вторичные иммунодефициты являются частым осложнением многих заболеваний и состояний. Основные причины вторичных ИДС:

дефект питания и общее истощение организма также приводит к снижению иммунитета. На фоне общего истощения организма нарушается работа всех внутренних органов. Иммунная система особенно чувствительна к недостатку витаминов, минералов и питательных веществ, так как осуществление иммунной защиты это энергоемкий процесс. Часто снижение иммунитета наблюдается во время сезонной витаминной недостаточности (зима-весна)

хронические бактериальные и вирусные инфекции, а также паразитарные инвазии (туберкулёз, стафилококкоз, пневмококкоз, герпес, хронические вирусные гепатиты, краснуха, ВИЧ, малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, аскаридоз и др.). При различных хронических заболеваниях инфекционного характера иммунная система претерпевает серьёзные изменения: нарушается иммунореактивность, развивается повышенная сенсибилизация по отношению к различным антигенам микробов. Кроме того, на фоне хронического инфекционного процесса наблюдается интоксикация организма и угнетение функции кроветворения. Иммунодефицит во время инфекции ВИЧ опосредован избирательным поражением клеток иммунной системы вирусом

гельминтозы

потеря факторов иммунной защиты наблюдается во время сильных потерь крови, при ожогах или при заболеваниях почек (протеинурия, ХПН). Общей особенностью этих патологий является значительная потеря плазмы крови или растворенных в ней белков, часть их которых является иммуноглобулинами и другими компонентами иммунной системы (белки системы комплимента, С-реактивный белок). Во время кровотечений теряется не только плазма, но и клетки крови, поэтому на фоне сильного кровотечения снижение иммунитета имеет комбинированный характер (клеточно-гуморальный)

диарейный синдром

стресс-синдром

тяжелые травмы и операции также протекают со снижением функции иммунной системы. Вообще любое серьёзное заболевание организма приводит к вторичному иммунодефициту. Отчасти это связано с нарушением обмена веществ и интоксикацией организма, а отчасти с тем, что во время травм или операций выделяются большие количества гормонов надпочечников, которые угнетают функцию иммунной системы

эндокринопатии (СД, гипотиреоз, гипертиреоз) приводят к снижению иммунитета за счет нарушения обмена веществ организма. Наиболее выраженное снижение иммунной реактивности организма наблюдается при сахарном диабете и гипотиреозе. При этих заболеваниях снижается выработка энергии в тканях, что приводит к нарушению процессов деления и дифференциации клеток, в том числе и клеток иммунной системы. На фоне сахарного диабета частота различных инфекционных заболеваний значительно повышается. Связано это не только с угнетением функции иммунной системы, но и с тем, что повышенное содержание глюкозы в крови больных диабетом стимулирует размножение бактерий

острые и хронические отравления различными ксенобиотиками (химическими токсичными веществами, лекарственными препаратами, наркотическими средствами). Особенно выражено снижение иммунной защиты во время приема цитостатиков, глюкокортикоидных гормонов, антиметаболитов, антибиотиков

низкая масса тела при рождении

снижение иммунной защиты у людей старческого возраста, беременных женщин и

детей связано с возрастными и физиологическими особенностями организма этих категорий людей

злокачественные новообразования – нарушают деятельность всех систем организма. Наиболее выраженное снижение иммунитета наблюдается в случае злокачественных заболеваний крови (лейкемия) и при замещении красного костного мозга метастазами опухолей. На фоне лейкемии количество иммунных клеток в крови порой повышается в десятки, сотни и тысячи раз, однако эти клетки нефункциональны и потому не могут обеспечить нормальной иммунной защиты организма

аутоиммунные заболевания возникают из-за нарушения функции иммунной системы. На фоне заболеваний этого типа и при их лечении иммунная система работает недостаточно и, порой, неправильно, что приводит к повреждению собственных тканей и неспособности побороть инфекцию

Лечение вторичных ИДС

Механизмы подавления иммунитета при вторичных ИДС различны, и, как правило, имеется сочетание нескольких механизмов, нарушения иммунной системы выражены в меньшей степени, чем при первичных. Как правило, вторичные иммунодефициты носят приходящий характер. В связи с этим лечение вторичных иммунодефицитов гораздо проще и эффективнее по сравнению с лечением первичных нарушений функции иммунной системы. Обычно лечение вторичного иммунодефицита начинают с определения и устранения причины его возникновения. Например, лечение иммунодефицита на фоне хронических инфекций начинают с санации очагов хронического воспаления. Иммунодефицит на фоне витаминно-минеральной недостаточности начинают лечить при помощи комплексов витаминов и минералов. Восстановительные способности иммунной системы велики, поэтому устранение причины иммунодефицита, как правило, приводит к восстановлению иммунной системы. Для ускорения выздоровления и стимуляции иммунитета проводят курс лечения иммуностимулирующими препаратами. В настоящее время известно большое число иммуностимулирующих препаратов, с различными механизмами действия.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №17

Сдача модуля: «Инфекционная иммунология. Реакции иммунитета.Иммунный статус. Иммунодефи

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

ОСЕННИЙ СЕМЕСТР

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в осеннем семестре. Указания составлены в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом Высшего и профессионального образования.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:
Л.В. Бибаева -д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.
А.Р. Кусова-д.м.н., профессор зав. кафедрой общей гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Методические рекомендации утверждены на заседании ЦКУМС ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России от 22.03.2022г., протокол № 4

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1.

ТЕМА: *СТАФИЛОКОККИ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТАФИЛОКОККОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.*

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить биологические свойства стафилококков.
2. Изучить методы микробиологической диагностики стафилококковых заболеваний.

ПЛАН ЗАНЯТИЯ:

7. Морфология, культуральные и биохимические свойства стафилококка.
8. Факторы вирулентности стафилококка.
9. Антигены стафилококка.
10. Заболевания, вызываемые стафилококком.
11. Методы диагностики и исследуемый материал при стафилококковых заболеваниях.
12. Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ:

5. Изучить морфологию стафилококка в мазке из чистой культуры, описать, зарисовать.
6. Дать макроскопическую характеристику колоний на молочно-солевом агаре (бактериологический метод диагностики, 1-й этап исследования).
7. Идентифицировать культуру стафилококка по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, определить факторы вирулентности (2-й этап бактериологического метода):

а) учет результатов посева культуры стафилококка на кровяной агар с цель определения гемолизина.

б) учет результатов посева в цитратную плазму для определения плазмокоагулазы.

в) учет результатов посева на желточно-солевой агар с целью определения лецитиназы.

г) учет результатов посева на среду с маннитом.

6. Описать препараты для специфической терапии и профилактики стафилококковых заболеваний (стафилококковый анатоксин, антистафилококковая плазма, противостафилококковый иммуноглобулин, стафилококковый бактериофаг).
7. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования

Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.

2. Микроскопы – 8шт.

Иммерсионное масло

3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. Чашки с КАс ростом стафилококка -8шт.
5. Пробирки с МПА с ростом стафилококка- 8шт.
6. Пробирки с МПБ - 8 шт.

7. Чашки Петри с лецитиназной активностью- 8 шт
8. Чашки Петри с молочно-солевым агаром и ростом стафилококка-8шт
9. Пробирки с свернувшейся цитратной плазмой – 4 шт.
10. Бакпрепараты.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Основной метод диагностики стафилококковых заболеваний - бактериологический. Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на желточно-солевой, кровяной или молочно-солевой агары. Выросшие изолированные колонии пересевают на скошенный агар для получения чистой культуры.

Идентификацию чистой культуры проводят по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, затем определяют факторы вирулентности.

I. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ.

На чашку с кровяным агаром сделан посев культуры стафилококка. Чашки оставляют в термостате на 24 часа при температуре 37 градусов.

При оценке результатов обращают внимание на зоны гемолиза, т.е. просветление среды вокруг выросших колонии. Гемолитические свойства бактерий связаны с наличием гемолизина (экзотоксина).

IV. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЦИТИНАЗЫ

На чашку с желточно-солевым агаром сделан посев стафилококка. Чашки оставляют в термостате на 24 часа.

При оценке результатов учитывают наличие венчиков помутнения вокруг колоний, что свидетельствует об образовании стафилококком фермента лецитиназы.

V. ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ФЕРМЕНТА ПЛАЗМОКОАГУЛАЗЫ

Производят посев культуры стафилококка в цитратную плазму. Пробирки ставят в термостат. Результаты учитывают через 24 часа. При наличии фермента плазмокоагулазы происходит коагуляция плазмы с образованием сгустка фибрина. Наличие фермента плазмокоагулазы является основным идентификационным признаком вида S.aureus, который нередко является возбудителем внутрибольничной инфекции.

IV.ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ МАННИТА В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Для определения этого признака, подтверждающего принадлежность чистой культуры стафилококка к наиболее агрессивному виду S.aureus, сделан посев в среду с маннитом. При расщеплении маннита образуются кислые продукты, которые изменяют цвет индикатора в среде (индикатор Андреде - дает красную окраску среды, а индикатор ВР - синюю).

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

Информационный материал к теме

Из 14 видов стафилококков, обитающих на коже и слизистых оболочках человека, преобладают и чаще вызывают заболевания: S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus. Стафилококки- грамположительные кокки, неподвижны, спор и капсул не образуют, в мазках располагаются скоплениями в виде « гроздьев винограда». **Культуральные свойства**. Не требовательны к питательным средам: культивируются на МПА с образованием пигментированных колоний желтого или белого цвета, в МПБ дают диффузно- мутящий рост. Для идентификации стафилококков имеет значение характер роста на кровяном агаре (зона гемолиза) и желточно-солевом агаре (ЖСА) (определение лецитиназы).

Биохимические свойства. Стафилококки расщепляют углеводы до кислоты. Важным дифференцирующим признаком различных видов стафилококков является образование кислоты из маннита в аэробных и анаэробных условиях.

Факторы патогенности.

1.Факторы адгезии:

-тейхоевые кислоты обеспечивают адгезию на клетках организма;

« госпитальный штаммы» S.epidermidis вырабатывают особый вид слизи, обеспечивающий их прикрепление к полимерным материалам катетеров, искусственных клапанов сердца и создание на них бактериальной биопленки. Это происходит к развитию сепсиса и эндокардита, обусловленных « госпитальными штаммами» S.epidermidis.

2.Белок А неспецифические связывает Fc- фрагмент IqQ что приводит к угнетению фагоцитоза, функции комплемента и опсонизирующиего действия антител.

3.Эклипсные антигены, имеющие антигенную общность с клетками кожи и почек человека.

8. Ферменты патогенности:

–гиалуронидаза, расщепляет гиалуроновую кислоту в составе соединительной ткани, что способствует распространению стафилококков;

-плазмокоагулаза вызывает свертывание белков сыворотки крови, образуя фибриновую «псевдокапсулу», защищающую стафилококки от фагоцитоза

-Плазмокоагулаза является одним из важных маркеров различных видов стафилококков для дифференциации. S.aureus имеет плазмокоагулазу и относится к коагулазоположительным стафилококкам; S.epidermidis и S. Saprophyticus не имеют плазмокоагулазы и относятся к коагулазоотрицательным (КОС).

-фибринолизин расщепляет фибрин и способствует расщеплению стафилококков в организме;

-лецитиназа разрушает липидные мембраны клеток организма;

-нуклеазы (РНК-азы, ДНК-азы) расщепляют молекулы ДНК и РНК, что приводит к разрушению синтеза белка в клетках и ихгибели;

-β-лактамазы разрушает -β-лактамные антибиотики (пенициллины, цефалоспорины).

5.**Экзотоксины:**

-гемолизины 4-х типов, в основном обладающих гемолитическим и цитотоксическим действием;

-лейкоцидин разрушает лейкоциты;

эксфолиатины вызывают повреждение и отслойку эпидермиса с накоплением жидкости и образованием пузырей, обуславливая развитие синдрома «ошпаренной кожи» (синдром Лайелла);

-экзотоксин токсического шока (ЭШТ) вызывает системное поражение организма в виде синдрома токсического шока (СТШ) с высокой летальностью;

-энтеротоксины вызывают симптоматику острого пищевого отравления. Все токсины, кроме гемолизинов, продуцирует только S.aureus.

6.**R- плазмиды (**факторы множественной лекарственной устойчивости**).**
S.aureus- распространен повсеместно, входят в состав факультативной микрофлоры кожи и слизистых оболочек носа и носоглотки.
Источники инфекции являются больной человек и бактерионоситель. Часто формируется носительство у медперсонала.
Пути заражения: воздушно-капельный, контактный, алиментарный. У лиц со сниженной резистентностью возможен эндогенный способ заражения.
Нозологические формы инфекций, вызываемых S.aureus, многообразны, т.к. поражаются любые ткани и органы.
S.epidermidis колонизирует кожу и слизистые оболочки. Наиболее часто вызывает внутрибольничные, ятрогенные инфекции: сепсис, эндокардит, урологическую инфекцию, что связано с колонизацией этими микроорганизмами искусственных клапанов сердца, катетеров, протезов сосудов.
S. Saprophyticus колонизирует слизистые оболочки урогенитального тракта и вызывает воспаление различных отделов мочеполовых путей у людей с пониженной резистентностью.

Основные нозологические формы стафилококковых инфекций

Формы заболевания	Материал для исследования
Локальные	
Гнойные поражения кожи (фурункулы,карбункулы,абсцессы. Флегмоны)	Гнойное отделяемое, гнойное содержимое
Мастита	Грудное молоко, гной из абсцесса
Ангина, тонзиллит	Мазок из зева, с миндалин
Пневмония, бронхопневмония	Мокрота, промывные воды бронхов, кровь
Артрит	Суставная жидкость
Конъюнктивы	Гнойное отделяемое конъюктивы
Инфекции мочевыводящих путей	Моча
Пищевые отравления	Промывные воды желудка, рвотные массы, фекалий, остатки пищи
Генерализованные	
Сепсис	
Эндокардит	
Менингит	
Гематогенный остеомиелит	
Синдром токсического шока (СТШ)	Отделяемое из влагалища, кровь

Специфическое лечение стафилококковых инфекций

Острые стафилококковые инфекции	Хронические стафилококковые инфекции
Иммуноглобулин стафилококковый человеческий	Анатоксин стафилококковый очищенный жидкий
Стафилококковый бактериофаг	Убитая стафилококковая вакцина, химические стафилококковые вакцины на основе протективных антигенов

Стрептококки - грамположительные кокки, неподвижны, спор и капсул не образуют, в мазках располагаются цепочками.

Культуральные свойства. Стрептококки требовательны к питательным средам. В сахарном бульоне дают придонно-пристеночный тип роста. На кровяном агаре образуют мелкие выпуклые колонии. Факультативные анаэробы.

По характеру роста на кровяном агаре выделяют 3 группы стрептококков:

4) α- гемолитические образуют вокруг колоний зону позеленения («зеленящие стрептококки») в результате превращения гемоглобина в метгемоглобин;
5) β-гемолитические вызывают полный лизис эритроцитов и образуют вокруг колоний прозрачную зону;
6) γ-стрептококки не вызывают гемолиза и относятся к негомолитическим.

Биохимические свойства. При идентификации стрептококков учитывают их способность ферментировать углеводы, расти на средах с желчью, а также на средах с высокой концентрацией NaCI и редуцировать в молоке метиленовый синий.

Антигенная структура. По антигенной структуре (полисахаридные антигены клеточной стенки) Р.Ленсфильд разделила стрептококки на 20 серогрупп – А, В, С, и т.д. К стрептококкам группы А относят - S.pyoqenes (β-гемолитические - стрептококк), наиболее патогенный вид.

α- гемолитические стрептококки в большинстве входят в состав нормальной микрофлоры («оральные стрептококки «, энтерококки), но могут вызывать патологию у человека при снижении резидентности организма.

Негемолитические стрептококки входят в состав облигатной микрофлоры слизистых оболочек человека и обычно не вызывают патологических процессов.

Наиболее эпидеимологичеки значимым для человека является вид S.pyoqenes, обладающий значимым набором **факторов патогенности:**

4. Факторы адгезии: липотейхоевая кислота клеточной стенки;
5. Белок М обеспечивает не только адгезию, но и подавление фагоцитоза;
6. Эклипсные антигены имеющие антигенную общность с тканью сердца и почек.

Ферменты патогенности:

-гиалуронидаза – способствует перемещению микробов по соединительной ткани;

-фибринолизин (стрептокиназа)- вызывает растворение фибриновых тромбов, способствует распространению по кровеносному руслу;

-ДНК-аза- разрушает молекулы ДНК.

Экзотоксины:

-гемолизины (О- и S- стрептолизины) – оказывают гемолитическое и цитотоксическое действие на кардиомиоциты и фагоциты;

-эритрогенные (пирогенные)- приводят к образованию высыпаний на коже, оказывают пирогенное действие, вызывают развитие синдрома токсического шока.

Источник инфекции:больной человек и бактерионоситель.

Пути заражения: воздушно-капельный, контактный, для S aqalactiae – интранатальный (во время родов).

Основным методом микробиологической диагностики стрептококковых инфекций является бактериологический.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап (день исследования)	Ход исследования	Результат
	Микроскопия мазков из гноя, окрашенных по Граму	Среди лейкоцитов видны Гр + коккки, раположенные

1-ый	Посев гоня в чашки с желчно-солевым агаром	небольшими гроздьми, а также по одиночке и попарно. Рост колоний средних размеров с помутнением вокруг колоний и радужным венчиком
2 - ый	Микроскопия мазков из отобранных колоний, окрашенных по Граму Отсев колоний с радужным венчиком на скошенный агар	В поле зрения видны Гр + кокки, расположенной формы
3-ый	Идентификация выделенной чистой культуры. Определение признаков патогенности: а) микроскопия мазка, окрашенного по Граму; б) посев на среды Гисса с маннитом и глюкозой в анаэробных и анаэробных условиях; в) определение гиалуронидазной активности, плазмокоагуляции, ДНК-азы; г) определение α- гемолизина на чашках с кровяным агаром; д) фаготипирование. Проверка чувствительгности к антибиотикам методом бумажных дисков.	
4-ый	Заключение по проведенному исследованию	Выделена культура патогенного стафилркокка. Фаготип ------ чувствительна к следующим антибиотикам

Скарлатина - острое инфекционное заболевание, проявляющееся мелкоточечной сыпью, лихорадкой, общей интоксикацией, ангиной. Возбудитель болезни – стрептококк группы А (Streptococcus pyogenes). Заражение происходит от больных воздушно-капельным путем (при кашле, чихании, разговоре), а также через предметы обихода (посуда, игрушки, белье). Особенно опасны больные как источники инфекции в первые дни болезни.

Источниками возбудителя инфекции являются больной скарлатиной или любой другой клинической формой стрептококковой инфекции и бактерионоситель. Чаще болеют дети 3—10 лет, посещающие детские дошкольные учреждения и школу. Появлению случаев скарлатины в детских учреждениях, как правило, предшествует повышенный уровень заболеваемости ангинами и острыми респираторными вирусными инфекциями. Дети первого года жизни (особенно первого полугодия) и взрослые скарлатиной болеют редко. Основной путь передачи возбудителя инфекции — воздушно-капельный.

Патогенез

Возбудитель проникает в организм человека через слизистые оболочки зева и носоглотки, в редких случаях возможно заражение через слизистые оболочки половых

органов или повреждённую кожу. В месте адгезии бактерий формируется местный воспалительно-некротический очаг. Развитие инфекционно-токсического синдрома обусловлен в первую очередь поступлением в кровоток эритрогенного токсина стрептококков (токсина Дика), а также действием пептидогликана клеточной стенки. Токсинемия приводит к генерализованному расширению мелких сосудов во всех органах, в том числе в кожных покровах и слизистых оболочках, и появлению характерной сыпи. Синтез и накопление антитоксических антител в динамике инфекционного процесса, связывание ими токсинов в последующем обусловливают уменьшение и ликвидацию проявлений токсикоза и постепенное исчезновение сыпи. Одновременно развиваются умеренные явления периваскулярной инфильтрации и отёка дермы. Эпидермис пропитывается экссудатом, его клетки подвергаются ороговению, что в дальнейшем приводит к шелушению кожи после угасания скарлатинозной сыпи. Сохранение прочной связи между ороговевшими клетками в толстых слоях эпидермиса на ладонях и подошвах объясняет крупнопластинчатый характер шелушения в этих местах.

Компоненты клеточной стенки стрептококка (групповой А-полисахарид, пептидогликан, белок М) и внеклеточные продукты (стрептолизины, гиалуронидаза, ДНК-аза и др.) обусловливают развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, аутоиммунных реакций, формирование и фиксацию иммунных комплексов, нарушения системы гемостаза. Во многих случаях их можно считать причиной развития гломерулонефрита, артериитов, эндокардитов и других осложнений иммунопатологического характера.

Из лимфатических образований слизистой оболочки ротоглотки возбудители по лимфатическим сосудам попадают в регионарные лимфатические узлы, где происходит их накопление, сопровождающееся развитием воспалительных реакций с очагами некроза и лейкоцитарной инфильтрации. Последующая бактериемия в некоторых случаях может привести к проникновению микроорганизмов в различные органы и системы, формированию гнойно-некротических процессов в них (гнойного лимфаденита, отита, поражений костной ткани височной области, твёрдой мозговой оболочки, височных синусов и т.д.).

Скарлатину следует отличать от кори, краснухи, псевдотуберкулёза, лекарственных дерматитов. В редких случаях развития фибринозных налётов и особенно при их выходе за пределы миндалин заболевание необходимо дифференцировать от дифтерии.

Скарлатину отличают яркая разлитая гиперемия ротоглотки («пылающий зев»), резко ограниченная в месте перехода слизистой оболочки на твёрдое нёбо, ярко-красный язык с малиновым оттенком и гипертрофированными сосочками («малиновый язык»), мелкоточечные элементы сыпи на общем гиперемированном фоне, сгущение сыпи в виде тёмно-красных полос на кожных складках в местах естественных сгибов, отчётливо выраженный белый дермографизм, бледный носогубной треугольник (симптом Филатова). При надавливании на кожу ладонью сыпь в этом месте временно исчезает («симптом ладони»), положительны эндотелиальные симптомы. После исчезновения экзантемы отмечают мелкочешуйчатое шелушение кожи (на ладонях и подошвах крупнопластинчатое).

Лабораторная диагностика

Диагноз скарлатины основывается на клинических (острое начало заболевания, лихорадка, интоксикация, острый катаральный или катарально-гнойный (при септической форме болезни - некротический), тонзиллит, обильная точечная сыпь, сгущающаяся в естественных складках кожи и лабораторных (нейтрофильный лейкоцитоз, повышенная СОЭ, обильный рост бетагемолитических стрептококков при посеве материала из очага инфекции на кровяной агар, нарастание титров антител к стрептококковым антигенам - М-протеину, А-полисахариду, стрептолизину-О и другим) данных.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2.

ТЕМА: *ПАТОГЕННЫЕ ДИПЛОКОККИ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ СТРЕПТОКОККАМИ И НЕЙССЕРИЯМИ.*

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: « ПАТОГЕННЫЕ КОККИ»

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить морфологические и культуральные свойства патогенных грамположительных и грамотрицательных стрепто- и диплококков (нейссерий).
2. Освоить основные методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых патогенными диплококками.

ПЛАН ЗАНЯТИЯ

7. Морфологическая характеристика пневмококка (Streptococcus pneumoniae), менингококка, гонококка.
8. Сравнительная характеристика биохимической активности и потребности в питательных средах для диплококков разных видов.
9. Дифференциально-диагностические признаки (отличия) патогенных и непатогенных нейссерий.
10. Факторы вирулентности патогенных диплококков.
11. Источник инфекции, пути передачи, входные ворота при заболеваниях, вызванных диплококками.
12. Исследуемый материал и основные методы диагностики при патологических процессах, вызываемых диплококками.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

6. Изучение морфологии пневмококков (Str. pneumoniae) в мазках- отпечатках из органов белой мыши, зараженной внутрибрюшинной мокротой больного пневмонией. Окраска по Граму (таблица).
7. Изучение биохимической активности пневмококков с целью дифференциации их от стрептококков. Посев на среды с инулином и желчью.
8. Микроскопический метод диагностики острой гонореи: микроскопия мазка гнойного отделяемого уретры больного острой гонореей. Окраска метиленовым синим.
9. Серологический метод диагностики хронической гонореи: оценить демонстрационную реакцию связывания комплемента (по Борде-Жангу), поставленную с целью обнаружения антител в сыворотке больного гонореей.
10. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

11. Набор для бактериологического исследования

Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.
12. Микроскопы – 8шт.
Иммерсионное масло
13. Набор красок по Граму – 8шт.
14. Мазки с отделяемым уретры больного гонореей
15. РСК (демонстрация)
16. Бак препараты

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

5. При заражении белой мыши мокротой больного пневмонией, мышь погибает от пневмококкового сепсиса. Из органов погибшей мыши готовят мазки-отпечатки. Красят по Граму. На розовом фоне, образованном клетками ткани, обнаруживаются грамположительные диплококки слегка вытянутой формы, напоминающие контуры пламени свечи или ланцета, окруженные бесцветной капсулой.

6. Характерным признаком пневмококков, отличающим их от большинства других видов стрептококков, является отношение к желчи и желчно-кислым солям. Желчь не только убивает, но и растворяет пневмококки. Напротив, в отличие от зеленящих (S.faecalis, S.sanguis) и гемолитических стрептококков (S.pyogenes), пневмококки разлагают инулин.

7. Диагноз острой гонореи ставят с помощью микроскопического метода исследования. Из исследуемого материала делают два мазка, один окрашивают по Граму, другой - метиленовым синим. При наличии в мазке гонококков видны грамотрицательные диплококки, расположенные внутри лейкоцитов (незавершенный фагоцитоз).

8. Так как при хронической гонорее гонококки находятся вне клеток, имеют атипичную форму в виде шаров или очень мелких образований, использовать бактериоскопический метод для постановки диагноза нельзя. Поэтому для диагностики хронической гонореи применяют: бактериологический, серологический методы исследования.

Серологический диагноз гонореи ставят с помощью РСК. Реакция ставится для обнаружения антител в сыворотке крови больного, с помощью известного антигена, который представляет собой взвесь убитых гонококков.

Схема постановки РСК

Компоненты реакции	1-я (опыт)	2-я (контроль АГ)	3-я (контроль АТ)
1. Исследуемая сыворотка (1:5)	0,5	-	0,5
2. Антиген в рабочей дозе	0,5	0,5	-
3. Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4. Физиологический раствор	-	0,5	0,5
на 45 минут в термостат			
5. Гемолитическая система	1,0	1,0	1,0

на 45 минут в термостат

Учет результатов		гемолиз	гемолиз

Учет результата реакции начинают с контрольных пробирок. При наличии гемолиза в контрольных пробирках, о результатах реакции судят но опытной пробирке.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ К ТЕМЕ:

Менингококки (Neisseria meningitides)- грамотрицательные диплококки бобовидной формы, жгутиков и спор не имеют, в организме образуют капсулу.
Культуральные свойства. Очень требовательны к условиям культивирования. Растут на плотных и жидких питательных средах, содержащих 20-25% сыворотки (сывороточный агар, сывороточный бульон). На плотной среде образуют мелкие гладкие прозрачные колонии. Строгий температурный оптимум - 37° С (при других температурах менингококки погибают) необходимо создать как при культивировании, так и при транспортировке материала от больного в лабораторию.
Среди представителей рода Neisseria есть условно-патогенные виды, обитатели слизистых оболочек носоглотки – N. Sicca, N.mucosa и др. У людей с ослабленной резистентностью они могут вызывать заболевания клинически сходные с менингококковой инфекцией.
Антигенная структура. N meningitides имеет родовые антигены общие для всех видов. Внутри вида по капсульным полисахаридным антигенам различают серогруппы N meningitides-A,B,C,D,Y.Z и др.
Эпидемиологические вспышки чаще вызывают возбудители серогрупп A,B,C.
Факторы патогенности менингококков:
1.Пили – обеспечивают адгезию на клетках цилиндрического эпителия носоглотки.
2.Ig A- протеазы- расщепляют молекулы SIg A, снижая тем самым местную защиту слизистых оболочек носоглотки;
3.Капсула- защищает от фагоцитоза;
4.Ферменты патогенности: гиалуронидаза, нейроминидаза и др.
5.Эндотоксин (ЛПС клеточной стенки)- вызывает поражение кровеносных сосудов, что проявляется кровоизлияниями во внутренние органы и геморрагической сыпью на коже.
Источником инфекции являются больной человек, либо бактерионоситель. Чаще (в 70-80% случаев) болеют дети первых трех лет жизни.
Пути заражения – воздушно-капельный. Входные ворота инфекции – слизистая оболочка носоглотки. Менингококковая инфекция может протекать в нескольких клинических формах, которые разделяют на локализованные и генерализованные.

Основные клинические формы менингококковой инфекции и материал для микробиологического исследования

ФОРМЫ	ЗАБОЛЕВАНИЯ	МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ
Первично-локализованные	менингококковое носительство	мазок из носоглотки
	Острый назофарингит	
Гематогенно-генерализованные	Менингококциемия	Мазок из носоглотки, кровь
	Эпидемиологический цереброспинальный менингит, менингоэнцефалит	Мазок из носоглотки, кровь. ликвор

Микробиологическая диагностика **менингококковых инфекций.**

3. Бактериологический метод (основной) – выделение чистой культуры возбудителя на сывороточных средах и определение его антибиотикочувствительности.

4. Бактериологический метод – использует как обязательный ориентировачный. В мазках из нативного материала с окраской по Грамму выделяется внутриклеточное расположение бактерий и характерная картина незавершенного фагоцитоза менингококков.

Специфическая профилактика менингококковой инфекции проводятся только по эпидемиологическим показаниям менингококковой полисахаридной вакциной серогрупп А и С.

Гонококки- (N. Gonorrhoeae) – грамотрицательные диплококки бобовидной формы, образуют капсулу в организме, жгутиков и спор не имеют.

Культуральные свойства. Требовательны к питательным средам и температурный оптимум – 37 ˚С. Требуют свежеприготовленные влажные питательные среды с добавлением нативных белков крови, сыворотки или асцитной жидкости. Не вызывают гемолиза на средах, содержащих кровь, на средах содержащих с добавлением молока, желатина и картофеля не растут.

Для гонококков характерна выраженная антигенная изменчивость даже в пределах одного штамма.

Биохимические свойства: разлагают только глюкозу с образованием кислоты. Протеолитическая активность отсутствует, аммиака, сероводорода и индола не образуют.

Факторы патогенности гонококов:

7. Пили - обеспечивают адгезию к клеткам цилиндрического эпителия мочеполовых путей;
8. Капсула - в свежевыделенных культурах обладает антифагоцитарным действием;
9. Клеточная стенка содержит эндотоксин.
10. Поверхностный белок 1 классам обуславливает к бактерицидным факторам;
11. Поверхностный белок 2 класса образует отдельную белковую фракцию называемые протеинами мутности или Opa – протеинами (мутность). Их считают первыми факторами вирулентности гонококков, и они обуславливают прикрепление к эпителию.
12. R- плазмиды факторы множественной лекарственной устойчивости.

Для диагностики применяют:

Бактериологический метод (основной)- выделение чистой культуры возбудителя на сывороточных средах и определение его антибиотикочувствительности. Окраска по Граму и характерная картина незавершенного фагоцитоза гонококков.

Серологический метод используют при хронической гонорее, при отсутствии у больного выделений. Проводят РСК по Борде-Жангу по стандартной схеме, которая бывает положительной с 3-4 недель. В качестве антигена для РСК применяют гоновакцину или антиген из убитых гонококков.

Генетический метод- определение участков генома гонококка в материале от больного с помощью ПЦР.

Для **специфического лечения** хронических форм гонореи используют убитую гонококковую вакцину.

Пневмококки- Streptococcus pneumoniae- грамположительные диплококк, обычно ланцетовидные или располагающиеся в виде цепочек, имеющие полисахаридную капсулу, которая позволяет легко « типировать» их специфическими антисыворатками. Пневмококки неподвижны, спор не образуют; факультивные анаэробы. При культивирование на искусственных питательных средах теряют капсулу, переходят из S –в R-форму. Хорошо растут на кровяных и сывороточных средах. При росте на агаре с кровью барана образуют колонии с зоной α частичный гемолиз и позеленение среды, β полный гемолиз, γ-гемолиза визуально невидимый гемолиз.

Ферментативная активность глюкоза с образованием молочной кислоты.
Пневмококк не содержит группового антигена серологически неоднороден по АГ капсульных полисахаридов выделяют 84 серовара.
При пневмококковой инфекции с целью выделения чистой культуры возбудителя ставят биопробу – внутрибрюшинно заражают белых мышей материалом от больного.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №3

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители кишечного эшерихиоза, кишечного иерсиниоза).***

Учебная цель: обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

ПЛАН:

1.Таксономия и основные биологические свойства возбудителей кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
2.Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3.Принципы микробиологической диагностики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
4.Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).

1.Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
2.Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).
3.Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
4.Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
   Штатив – 8шт.
   Пинцет -8 шт.
   Бактериологическая петля -8 шт.
   Флакон с физ.р-ром – 8шт.

Спиртовка -8 шт.

2.Микроскопы – 8шт.

Иммерсионное масло

1.Набор красок по Граму – 8шт.

2. Чашки со средой Эндо с ростом кишечной палочки -8шт.
3. Пробирки со средой Ресселя - 8шт.
4. Пробирки с МПБ - 8 шт.
5. Чашки Петри с индикаторными полосками на индол- 8 шт
6. Чашки Петри с индикаторными полосками на сероводород- 8 шт
7. Бак препараты

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В связи с трудностью дифференциации возбудителей кишечных заболеваний, вызывающих сходные клинические проявления, необходимо проведение комплексного микробиологического исследования, включающего одновременный поиск в исследуемом материале возбудителей эшерихиозов, шигеллезов, сальмонеллезов и холеры.

1. Исследуемый материал (испражнения больного) засевают на поверхность одной из дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителя кишечных заболеваний (среду Эндо) и 1 %щелочной агар для выделения возбудителя холеры.

Посев проводится штрихом на поверхности плотной питательной среды с целью механического разъединения микробов и получения изолированных колоний.

Чашки с 1 % щелочным агаром инкубируют при 37 град. 10-12 часов, чашки со средой Эндо - 18-24 часа.

2. После инкубации в термостате посевы на чашках со средами Эндо и 1 % щелочном агаре просматривают в проходящем и преломляющем свете. При отсутствии каких-либо признаков роста микробов на щелочном агаре, дается отрицательный ответ в отношении нахождения возбудителя холеры в исследуемом материале.

На среде Эндо через 18-24 ч. роста в термостате отмечается наличие колоний малиново-красных (ферментирующих лактозу, входящую в состав среды) и бесцветных (не ферментирующих лактозу).

3. Бесцветные ("подозрительные") колонии высевают на среду Ресселя. Состав среды Ресселя: МПА, 1 % лактозы, 0.1 % глюкозы и индикатор Андреде.

Посев производится следующим образом: снятую колонию осторожно, не задевая края пробирки, вносят в конденсационную жидкость, затем штрихами засевают всю скошенную поверхность среды и делают укол в глубину столбика. Пробирку с посевом на среде Ресселя ставят в термостат (37°С) на сутки (18-24 ч.).

Одновременно для изучения протеолитической активности культуры лактозонегативные колонии высевают в пробирку с МПБ с индикаторными бумажками, пропитанными ацетатом свинца и щавелевой кислотой для определения образования сероводорода и индола. Пробирку помещают в термостат (37°С, 18-24 ч.)

Эшерихиоз (кишечная колиинфекция) — острая кишечная инфекция, вызванная различными серологическими группами энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП), протекающая с симптомами общей интоксикации и синдромом поражения желудочно-кишечного тракта.

Этиология эшерихиоза.

Возбудители — энтеропатогенные кишечные палочки —принадлежат к виду Esheirichia, роду Escherichia, семейству Enterobacteroceae, представляют собой грамотрицательные палочки, устойчивые во внешней среде. Могут месяцами сохраняться в почве, воде, испражнениях. Хорошо растут на обычных питательных средах. Быстро погибают при кипячении и воздействии дезинфицирующих средств. Эшерихии имеют сложную антигенную структуру: соматический О-антиген (термостабильный), поверхностный (капсульный) К-антиген и жгутиковый Н-антиген (термолабильный).
Кишечные инфекции, вызванные ЭПКП, встречаются чаще у детей раннего возраста
Классификация эшерихиозов:

- Энтеропатогенный (сальмонеллезоподобный).
- Энтеротоксический (холероподобный).
- Энтероинвазивный (дизентериеподобный).
- Энтерогеморрагический.

Диагноз эшерихиоза может быть установлен только при выделении возбудителя. Для бактериологического исследования отбирают фекалии, рвотные массы, промывные воды желудка, при генерализованных формах – кровь, СМЖ. Проводить исследование испражнений нужно сразу же, как только больной обратился за помощью к врачу, так как с течением времени вероятность выделения возбудителя быстро снижается. Сбор испражнений проводится после естественной дефекации или с помощью тампонов в пробирки с глицериновой смесью в количестве не более 1/3 объема консерванта, а рвотных масс и промывных вод желудка – в стеклянные баночки емкостью 200-250 мл. В лечебном учреждении должно быть проведено не менее трех диагностических исследований (первое – при поступлении больного до назначения ему антибиотиков, химиопрепаратов).

С целью выделения ЭПКП и ЭТКП следует отбирать пробы испражнений из последних порций, при исследовании ЭИКП – пробы с примесью слизи.

Отобранный материал в течение первых 2 ч доставляют в лабораторию, если это невозможно – помещают в холодильник и направляют в лабораторию не позднее 12 ч после забора.

При решении вопроса об этиологической роли возбудителя при возникновении кишечной инфекции необходимо учитывать следующие критерии:

• выделение эшерихий определенных сероваров, относящихся к ЭПКП, ЭИКП, ЭТКП, ЭГКП или ЭАКП, в монокультуре в сочетании с непатогенными сероварами эшерихий; если эшерихия патогенна, диагноз может быть установлен по одному положительному бакпосеву;

• массивное выделение ЭТКП (106/г фекалий и более) и значительное их преобладание над представителями другой условно-патогенной флоры.

Определенное диагностическое значение имеют серологические методы исследований, хотя они и менее информативны, неубедительны, так как возможны ложноположительные результаты из-за антигенного сходства с другими энтеробактериями. Используются для ретроспективной диагностики, особенно во время вспышки. В настоящее время из серологических методов исследования используют РНГА (диагностический титр 1:200 – 1:400 для взрослых, 1:40 – 1:80 для детей); реакцию иммунофлуоресценции; реакцию иммунной сорбции антител, меченных ферментами; реакцию нейтрализации; реакцию агглютинации с аутокультурой при нарастании титра антител в 4 и более раз в динамике заболевания.

Перспективным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Чтобы доказать патогенность эшерихии, нужно убедиться, что она имеет рецепторы, обеспечивающие адгезивность, может продуцировать термолабильный и термостабильный

токсины, содержит плазмидную ДНК, кодирующую токсинообразование (Протасов С.А., 2003).

Если выделяются непатогенные эшерихии, надо подходить к диагностике как к таковой при других ОКИ, вызванных условно-патогенной флорой: трехкратный массивный рост микроорганизма, отсутствие высева патогенных возбудителей.

Диагноз «эшерихиоз», как отмечалось, неправомочен без бактериологического, а также серологического подтверждения. Исключение составляет клинико-эпидемиологическое обоснование диагноза.

Инструментальные методы обследования (ректороманоскопия, колоноскопия) при эшерихиозах малоинформативны.

При оформлении заключительного диагноза указывается вид выделенного возбудителя, синдром поражения пищеварительного тракта, степень тяжести заболевания. При затяжном течении отмечается также характер течения болезни. Например: эшерихиоз (E. coli O111) в форме острого гастроэнтерита, средней степени тяжести.

Диагноз бактерионосительства может быть установлен только в тех случаях, когда клинические симптомы заболевания отсутствуют в настоящее время и не отмечались в предыдущие 1-1,5 мес. Бактерионосительство, как правило, кратковременное (1-2-кратное выделение возбудителя). В таких случаях при оформлении диагноза указывается только вид возбудителя. Например: бактерионоситель энтеропатогенных эшерихий O125.

Этиология. Возбудитель (Yersinia enterocolica) - грамотрицательная палочка, анаэроб, хоро¬шо растет на обычных питательных средах при низких температу¬рах. Известно 30 сероваров. Заболевание у человека чаще вызывают 3-й, 5-й, 8-й и 9-й серовары.

Кишечный иерсиниоз.

Эпидемиология. Источником инфекции являются человек и животные, больные и носители. Особенно часто возбудитель обнаруживается у мышевидных грызунов, крупного рогатого скота, свиней, собак, кошек, в молочных продуктах, мороженом. Заражение человека происходит через рот при употреблении инфицированной пищи, воды или контактным путем.

Заболевание встречается в течение всего года.

Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, вследствие чего развивается энтероколит или гастроэнтероколит. В тяжелых случаях в области терминального отдела тонкой кишки возникает язвенный процесс с вовлечением мезентериальных лимфатических узлов. При проникновении возбудителя в кровь отмечаются бактериемия и генерализация процесса с развитием воспаления в органах.

Клиника. Инкубационный период — 2-3 дня. Клиническая симптоматика у больных практически не отличается от таковой при псевдотуберкулезе. Однако необходимо иметь в виду, что при кишечном иерсиниозе заболевание часто начинается с кишечных расстройств (обильный водянистый стул с примесью крови), а поражение внутренних органов возникает как бы вторично на высоте клинических проявлений и чаще в тяжелых случаях.

В диагностике кишечного иерсиниоза ведущую роль играют бак¬териологический и серологический методы исследования. Yersinia enterocolica можно выделить из кала, крови, мочи, гноя, слизи из зева, лимфатического узла. Из методов серологической диагностики используют реакцию агглютинации и реакцию непрямой гемагглютинации. Диагностический титр 1:100 и выше. Более достоверно нарастание титра специфических антител в динамике заболевания.

Профилактика кишечного иерсиниоза проводится так же, как при других кишечных инфекциях. Специфическая профилактика не разработана.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.

3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №4

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители брюшного тифа, сальмонеллезов).***

Учебная цель: обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей брюшного тифа, сальмонеллезов.
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
7. Принципы микробиологической диагностики брюшного тифа, сальмонеллезов.
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики брюшного тифа, сальмонеллезов.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
2.Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
3.Учет результатов реакции Видаля.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования

Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.

2. Микроскопы – 8шт.

Иммерсионное масло

3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. Пробирки со средой Ресселя – 8шт. (учет результата занятия №1)
5. Пробирки с МПБ - 8 шт. (учет результата занятия №1)
6. Бак препараты
7. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ **Брюшной тиф** — острая циклически протекающая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями Salmonella typhi (Salmonella enterica серотип typhi), с алиментарным путем передачи (фекально-оральный), характеризующаяся лихорадкой, явлениями общей интоксикации с развитием тифозного статуса, розеолезными высыпаниями на коже, гепато- и спленомегалией и специфическим поражением лимфатической системы нижнего отдела тонкой кишки.

Возбудитель — Salmonella typhi из семейства Enterobacteriaceae рода Salmonella, подвижная грамотрицательная палочка с закругленными концами, хорошо окрашиваемая

всеми анилиновыми красителями. Вырабатывает эндотоксин, патогенный только для человека. Не образует споры.

Бактерии брюшного тифа довольно устойчивы во внешней среде: в пресной воде водоемов они сохраняются до месяца, на овощах и фруктах — до 10 дней, а в молочных продуктах могут размножаться и накапливаться.

Под воздействием 3 % раствора хлорамина, 5 % раствора карболовой кислоты, сулемы (1:1000), 96 % этилового спирта они гибнут через несколько минут.

Сальмонеллы брюшного тифа имеют сложную антигенную структуру. Различные серовары содержат характерный набор антигенных факторов, которые складываются из сочетания О- и Н-антигенов.

Лабораторная диагностика прежде всего заключается в бактериологическом исследовании крови, кала, мочи, желчи. Метод гемокультуры можно использовать с первых дней заболевания и до конца лихорадочного периода, желательно до начала лечения. Для этого 5-10 мл крови из локтевой вены у постели больного засевают на 20 % желчный бульон или среду Рапопорта, мясопептонный бульон с 1 % глюкозы, либо даже в стерильную дистиллированную воду. Объем среды — 50-100 мл. Соотношение материала и среды должно быть 1:10. Кал, мочу, дуоденальное содержимое исследуют со 2-й недели от начала заболевания, засевая на среды Плоскирева, Левина, Мюллера и др. Предварительный результат этих исследований получают через 2 дня, окончательный — через 4 дня.Для выявления брюшной тифозной палочки в фекалиях, моче, дуоденальном содержимом используют РИФ с меченными сыворотками к О- и Vi-антигенам. Предварительный ответ может быть получен в течение 1 ч, окончательный — через 5-20 ч.

Из серологических методов используют РА (Видаля) и РПГА с цистеином. Реакцию Видаля ставят с Н- и О-антигенами с 7-9-го дня заболевания повторяют на 3-4-й неделе для определения нарастания титра (от 1:200 до 1:400-1:800-1:1600). Последнее имеет значение для исключения положительного результата реакции, который может быть обусловлен предшествовавшей иммунизации против брюшного тифа. Ответ может быть получен через 18-20 ч. При постановке РПГА учет результатов проводят после инкубирования пластин при 37° С в течение 1,5-2 ч и повторно — через 24 ч нахождения при комнатной температуре. Положительный считается реакция в титре 1:40 и выше.**Сальмонеллёзы —** острые кишечные инфекции животных и человека, вызываемые сальмонеллами. Острое инфекционное зооантропонозное заболевание, вызываемое сальмонеллами и характеризующееся, в общем случае, развитием интоксикации и поражением желудочно-кишечного тракта.

Сальмонеллёзы у человека рассматривают как определённое заболевание (нозологическую форму), отличая его от брюшного тифа и паратифов. Основной источник инфекции — пищевые продукты, реже- больное животное,в отдельных случаях источником заражения может быть человек (больной или бактерионоситель). Заражение происходит через инфицированные пищевые продукты, как правило, животного происхождения (мясо и мясные продукты, молоко, яйца, особенно утиные и гусиные), при вынужденном, неправильном убое животных, нарушении правил хранения и приготовления продуктов (соприкосновение готовой и сырой продукции, недостаточная термическая обработка продуктов перед употреблением и т. д.). Сальмонеллёзы развиваются в тех случаях, когда в организм попадают накопившиеся в продуктах живые сальмонеллы.

На территории РФ наиболее часто встречаются следующие серовары вида Salmonella enterica подвид enterica: Salmonella Enteritidis, Salmonella Typhimurium , Salmonella Infantis.

Клинические проявления сальмонеллёзов разнообразны — от бессимптомного носительства возбудителя инфекции до тяжёлых септических форм. Инкубационный период колеблется от 2—6 часов до 2—3 суток.

Различают несколько клинических форм сальмонеллёза:

1.Желудочно-кишечная форма

2.Тифоподобная форма

3.Септическая форма

В 15—17 % случаев сальмонеллёзов в периоде реконвалесценции наблюдается кратковременное бактерионосительство. Возможны «транзиторное» носительство (однократное выделение сальмонелл без клинических проявлений) и хроническое бактерионосительство.

Диагностика сальмонеллеза осуществляется комплексно с учетом эпидемиологических данных, симптоматики и результатов лабораторных исследований, направленных на изоляцию и типирование возбудителя. Основным способом типирования сальмонелл является реакция агглютинации. Для ее проведения до недавнего времени пользовались гипериммунными сыворотками, но в настоящее время им на смену пришли моноклональные антитела к сальмонеллам.

Профилактика.

Ветеринарно-санитарный надзор за убоем скота и обработкой туш; выполнение санитарных правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов; обследование поступающих на работу на предприятия общественного питания и торговли, детские учреждения.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №5

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители шигеллеза, холеры).***

Цель занятия:

1.Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей шигеллеза, холеры.
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
7. Принципы микробиологической диагностики шигеллеза, холеры.
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики шигеллеза, холеры.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

3. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
4. Учет результатов посева на дифференциально-диагностической среде Плоскирева (макро- и микроскопическое исследования).

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
   Штатив – 8шт.
   Пинцет -8 шт.

Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.

2. Микроскопы – 8шт.
   Иммерсионное масло
3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. чашки со средой Плоскирева с ростом колоний – 8шт.
5. Демонстрация: триада Полевой-Ермольевой – 4 шт.
6. Демонстрация: микропрепараты холерного вибриона, шигелл
7. Бак препараты
8. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Шигеллёзы — сборная группа инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями рода шигелл (Shigella).

Дизентерия — шигеллёз, протекающий с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки.

Этиология.

Возбудители — грамотрицательные неподвижные (родовой признак) бактерии рода Shigella семейства Enterobacteriaceae.

Эпидемиология.

Источник инфекции — больные лица и бактерионосители. Шигеллёз регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости в тёплый сезон.

Механизмы передачи — фекально-оральный и контактно-бытовой, через воду, пищевые продукты. Определённую роль в распространении инфекции играют насекомые-переносчики: мухи, тараканы.

Инфицирующая доза составляет 200—300 живых клеток, что обычно достаточно для развития заболевания.

Инкубационный период длится 1—7 дней.

Патогенез шигеллеза. Входными воротами инфекции является кишечник, где происходит размножение шигелл. Инвазия шигелл происходит преимущественно в энтероциты дистального отдела толстой кишки, что приводит к разрушению энтероцитов, развитию местных воспалительных изменений в виде отека, гиперемии, эрозии, поверхностных изъязвлений. Эндотоксины шигелл, попадая в кровь, вызывают общую интоксикацию, вплоть до развития эндотоксинового шока, нарушение всех видов обмена веществ – белкового, жирового, водно-солевого, с развитием эксикоза различной степени.

Лечение

Этиотропное (воздействие на возбудителя) лечение производится препаратами:
препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин),
хинолины (хлорхинальдон),
фторхинолоны (ципрофлоксацин).

Патогенетическое лечение состоит в дезинтоксикационной терапии изотоническими солевыми растворами (раствор Рингера), энтеросорбентами (энтеросорб, Активированный уголь, Полифепан, Смекта), а так же витаминотерапии. Проводят коррекцию дисбактериоза.

Лабораторная диагностика шигеллеза.

1. Общий анализ крови. Выявляют лейкоцитоз, нейтрофильный сдвиг влево, повышенную СОЭ; степень изменений обычно соответствует тяжести состояния.

2. Бактериологический метод. Материалом для исследования служат испражнения больного и рвотные массы. Используют дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Эндо или Левина).

3. Серологический метод. Исследуют парные сыворотки в РПГА с эритроцитарным диагностикумом для обнаружения антител и нарастания их титра.

Минимальным условно-диагностическим титром антител к диагностикуму шигелл Флекснера для детей до 3-х лет считают реакцию в разведении 1:100, для остальных диагностикумов 1:200 или 4-х кратное нарастание титра антител в динамике болезни.
4. Применяют также иммунофлюоресцентный метод, позволяющий обнаружить антиген в фекалиях, моче, крови; реакцию нарастания титра фага (РНФ), реакцию нейтрализации антител (РНА), иммуноферментный метод (ИФА) и иммунорадиометрический анализ (ИРА).

5. Копроцитологическое исследование проводят с первых дней болезни. При микроскопическом исследовании учитывают повышенное количество лейкоцитов, эритроцитов, клеток кишечного эпителия, наличие крахмала, жира и продуктов его расщепления, цисты простейших, яйца глистов.

Холера (лат. cholera (греч. cholera, от cholē желчь + rheō течь, истекать)) — острая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями вида Vibrio cholerae. Характеризуется фекально-оральным механизмом заражения, поражением тонкого кишечника, водянистой диареей, рвотой, быстрейшей потерей организмом жидкости и электролитов с развитием различной степени обезвоживания вплоть до гиповолемического шока и смерти.

Этиология. Известно более 150 серогрупп Vibrio cholerae; их разделяют на агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (V. cholerae O1) и на не агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (V. cholerae non O1) .

«Классическая» холера вызывается холерным вибрионом серогруппы O1 (Vibrio cholerae O1). Различают два биовара (биотипа) этой серогруппы: классический (Vibrio cholerae biovar cholerae) и Эль-Тор (Vibrio cholerae biovar eltor).

По морфологическим, культуральным и серологическим характеристикам они сходны: короткие изогнутые подвижные палочки, имеющие жгутик, грамотрицательные аэробы, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, спор и капсул не образуют, растут на щелочных средах (pH 7,6-9,2) при температуре 10-40 °C. Холерные вибрионы Эль-Тор в отличие от классических способны гемолизировать эритроциты барана (не всегда).

Каждый из этих биотипов по О-антигену (соматическому) подразделяется на серотипы. Серотип Инаба (Inaba) содержит фракцию С, серотип Огава (Ogawa) — фракцию В и серотип Гикошима (правильнее Гикосима) (Hikojima) — фракции А, В и С. Н-антиген холерных вибрионов (жгутиковый) — общий для всех серотипов. Холерные вибрионы образуют холерный токсин — белковый энтеротоксин.

Vibrio cholerae non-01 вызывают различной степени тяжести холероподобную диарею, которая также может закончиться летальным исходом

Как пример можно привести большую эпидемию, вызванную Vibrio cholerae серогруппы O139 Bengal. Она началась в октябре 1992 в порту Мадрас Южной Индии и, быстро распространяясь по побережью Бенгалии, достигла Бангладеш в декабре 1992, где только за первые 3 месяца 1993 вызвала более чем 100000 случаев заболевания.

Лабораторная диагностика. Цель диагностики: индикация Vibrio cholerae в испражнениях и/или рвотных массах, воде, определение агглютининов и вибриоцидных антител в парных сыворотках крови больных

Методика диагностики. Посев бактериологического материала (испражнения, рвотные массы, вода) на тиосульфат-цитрат-жёлчносолевой-сахарозный агар (англ. TCBS), а также на 1 % щелочную пептонную воду; последующий пересев на вторую пептонную воду и высев на чашки со щелочным агаром.

Выделение чистой культуры, идентификация.

Исследование биохимических свойств выделенной культуры — способность разлагать те или иные углеводы, т. н. «ряд сахаров» — сахарозу, арабинозу, маннит.

Реакция агглютинации со специфическими сыворотками

Профилактика. Предупреждение заноса инфекции из эндемических очагов

Соблюдение санитарно-гигиенических мер: обеззараживание воды, мытьё рук, термическая

обработка пищи, обеззараживание мест общего пользования и т. д.
Раннее выявление, изоляция и лечение больных и вибрионосителей
Специфическая профилактика холерной вакциной и холероген-анатоксином. Холерная вакцина имеет короткий (3-6 мес.) период действия.
В настоящее время имеются следующие пероральные противохолерные вакцины:
Вакцина WC/rBS — состоит из убитых целых клеток V. Cholerae O1 с очищенной рекомбинантной B-субъединицей холерного анатоксина (WC/rBS) — предоставляет 85-90-процентную защиту во всех возрастных группах в течение шести месяцев после приёма двух доз с недельным перерывом.
Модифицированная вакцина WC/rBS — не содержит рекомбинантной B-субъединицы. Необходимо принимать две дозы этой вакцины с недельным перерывом. Вакцина лицензирована только во Вьетнаме.
Вакцина CVD 103-HgR — состоит из ослабленных живых оральных генетически модифицированных штаммов V. Cholerae O1 (CVD 103-HgR). Однократная доза вакцины предоставляет защиту от V. Cholerae на высоком уровне (95 %). Через три месяца после приёма вакцины защита от V. Cholerae El Tor была на уровне 65 %.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6

ТЕМА: *ПАТОГЕННЫЕ АНАЭРОБЫ. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ АНАЭРОБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.*

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить современные методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых анаэробами.

2.Изучить препараты для специфической профилактики и терапии анаэробных заболеваний.

ПЛАН ЗАНЯТИЯ

7. Современные представления об этиологии анаэробной инфекции. Клостридиальная и неклостридиальная анаэробная инфекция.

8. Морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителей анаэробной инфекции: клостридий (газовой гангрены, столбняка, ботулизма), пептострептококков, бактероидов, фузобактерий, анаэробных вибрионов, кампилобактерии и спирилл.

9. Патогенетические аспекты анаэробной инфекции: первичная экзогенная и вторичная, эндогенная. Механизмы возникновения. Оппортунистические анаэробные и смешанные инфекции.

10.Методы микробиологической диагностики анаэробной инфекции.

11.Принципы специфической профилактики анаэробной инфекции. Препараты для активной и пассивной иммунизации.

12.Принципы специфической терапии анаэробной инфекции. Этиотропная и патогенетическая терапия: антибактериальная, гипербарическая оксигенация и т.п.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

3. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены: изучение мазка-отпечатка из гнойной раны, окраска по Граму.

4. Бактериологический метод диагностики анаэробной инфекции:

1-й этап - изучение на 5% кровяном агаре изолированных колоний бактероидов и пептострептококков, выделенных из гнойного экссудата.

Далее- получение чистой культуры анаэробных бактерий в полужидкой среде АС. Демонстрация селективных сред для культивирования анаэробов: Китта-Тароцци, «высокий» столбик сахарного агара.

2-й этап - идентификация чистой культуры анаэробных бактерий по биохимическим свойствам с использованием тест-системы АР1-Ап (принцип «пестрого ряда»).

7. Определение чувствительности анаэробных бактерий к антибиотикам (микрометод). Демонстрация результатов посева чистой культуры в микрокассету с антибиотиками.

8. Описание препаратов для специфической профилактики клостридиальной анаэробной инфекции: тетраанотоксин газовой гангрены, пентаанотоксин (+ столбнячный анатоксин), противостолбнячный компонент препаратов АДС и вакцин АКДС, ТАВte.

9. Описание препаратов для специфической терапии клостридиальной анаэробной инфекции: поливалентная противогангренозная сыворотка, антитоксическая противостолбнячная сыворотка, антитоксические моноклонапьные и поливалентные противоботулинические сыворотки.

10.Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

9. Набор для бактериологического исследования
   Штатив – 8шт.
   Пинцет -8 шт.
   Бактериологическая петля -8 шт.
   Флакон с физ.р-ром – 8шт.
   Спиртовка -8 шт.
10. Микроскопы – 8шт.
   Иммерсионное масло
11. Набор красок по Граму – 8шт.
12. чашки с КА с ростом колоний – 8шт.
13. Демонстрация:Китта-Тароцци и сахарный столбик– 4 шт.
14. Демонстрация: микропрепараты патогенных анаэробов
15. Бак препараты
16. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

4. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены. В мазке- отпечатке из гнойной раны (окраска по Граму) обнаруживаются палочковидные клетки фиолетового цвета.

5. Бактериологический метод диагностики анаэробной инфекции.

1-й этап. Первый день. На 5% кровяном агаре в чашке Петри (после культивирования в анаэростате: 80% N_2, 10% H_2, 10% CO_2) определяются несколько видов изолированных колоний, в том числе с различными видами гемолиза (α, β) и пигмента (например, черный пигменту бактероидов группы «melaninogenicus»). Второй день. В пробирке с чистой культурой пептострептококков в полужидкой среде АС наблюдаются мелкие гранулы белого цвета в нижней части пробирки со средой. При контроле чистоты выделенной культуры (окраска генциан-виолетом) определяются цепочки из удлиненных кокков синего цвета.

2-й этап. В тест-системе API-An для идентификации чистых культур по биохимическим свойствам определяется ферментация глюкозы (изменение окраски индикатора в желтый цвет) при отсутствии других проявлений гликолитической, а так же протеолитической активности (отрицательные пробы на индол и сероводород).

3-й этап. При определении чувствительности анаэробных бактерий к антибиотикам в микрокассете (после культивирования в анаэростате) отмечаются положительный и отрицательный варианты результатов.

4- этап. При изучении ампул с препаратами для специфической профилактики и терапии анаэробных инфекций, в протоколе отмечаются цели (профилактика, лечение), характер иммунизации (активная или пассивная, антитоксическая или антибактериальная), показания к применению и особенности использования каждого препарата.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение
1.	Мазок-отпечаток из гнойной раны. Окраска по Граму.		

Информационный материал

Столбняк тяжелая раневая инфекция.

Морфология грамположительные палочки с закругленными концами. Располагаются одиночно или цепочкой. Споры расположены терминально.

Культуральные свойства облигатный анаэроб. На МПА и желатине в строго анаэробных условиях возбудитель растет медленно и образует тонкие прозрачные колонии. При посеве столбиком в полужидкий агар через 24-48 часов формирует колонии в виде «чечевичек» R –формы или «пушинок» S формы.

Факторы патогенности – экзотоксины тетаноспазмин и тетанолизин.

Антигенная структура –О и Н антигены.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к столбняку отсутствует.

Диагностика: бактериоскопический, бактериологический и биологический.

Лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина анатоксином. Применяют противостолбнячную лошадиную сыворотку в дозе 50-100 тыс. МЕ.

Профилактика- хирургическая обработка раны. Создания искусственного активного

иммунитета в плановом порядке вакцинация АКДС, АДСм. Первичную вакцинацию проводят детям в 3- месячном возрасте.

Клостридия ботулизма

Ботулизм – острая пищевая токсикоинфекция, протекающая преимущественным поражением центральной и вегетативной системы.

Морфология- палочки с закругленными концами, подвижны, перетрихии. Споры расположены субтерминально.

Культуральные свойства – строгие анаэробы. Хорошо растут на средах Китта- Тароцци, бульон из мясаи рыбы. Вызывает помутнение среды и газообразование.

Все типы клостридии ботулизма образуют сероводород.

Антигенная структура имеют группоспецифические (Н) жгутиковые и типоспецифические соматические (О) антигены.

Факторы патогенности – ботулотоксин белок, проявляющее нейротоксическое действие. Ботулотоксин является самым сильным ядом, известным человеку.

Иммунитет. Естественный иммунитет человека отсутствует.

Лечение. Для лечения по Безредко больному в/в вводят одну международную лечебную дозу (по 10000 МЕ сывороток типов А и Е и 5000 МЕ типа В).

Профилактика. Для экстренной профилактики используется поливалентная (типов А,В,Е) лошадиная сыворотка.

Клостридия газовой гангрены.

Анаэробная раневая инфекция (газовая гангрена, анаэробный миозит)- тяжелая раневая инфекция человека и животных, вызываемая бациллами рода Clostribium perfinqens.

Морфология. Вегетативные клетки - крупные, грамположительные, неподвижные. Классические формы представленными под прямым углом концами. В организме образуют капсулы, они наиболее выражены у вирулентных штаммов. Резистентных к фагоцитозу.

Культуральные свойства. На плотных средах С Perfiinqens типа А образует S и R – колонии круглые. S- колонии куполообраные, с гладкими ровными краями. R – колонии неправильной формы краями; в глубине агара напоминают комочки ваты.

Рост на жидких и полужидких питательных средах, особенно содержащих глюкозу, происходит очень бурно с образованием H2 и CO2 и обычно заканчивается через 8-12 часов Помутнение среды и активное газообразование можно наблюдать через 4-8 часов культивирования.

Биохимическая активность- расщепляет с образованием кислоты и газа глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, маннозу, крахмал.

Протеолитическая активность слабая; разжижает желатину, интенсивно створаживают молоко.

Антигенная структура – все серовары образуют α- токсин (лецитиназу). Возбудитель образует как минимум 12 идентификационных токсинов и ферментов, играющих роль в патогенезе газовой гангрены.

Clostribium perfinqens широко распространен в окружающей среде; его выделяют из воды, почвы, сточных вод. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде, способны вегетировать в почве. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.

3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №7

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ (туляремии бруцеллеза)

Учебная цель:

1.Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики бруцеллеза,туляремии.

ПЛАН:

6. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей бруцеллеза,туляремии.
7. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
8. Принципы микробиологической диагностики бруцеллеза, туляремии
9. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики бруцеллеза,. туляремии
10. Сача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

3. Постановка и учет результатов реакции Хеддельсона и Райта при бруцеллезе.
4. Постановка и учет результатов реакции агглютинации при туляремии

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.
2. Микроскопы – 8шт.
Иммерсионное масло
3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. Готовые мазки с бруцеллами для окраски по Граму
5. Демонстрация: микропрепараты Бруцелл и возбудителя туляремии
6. Постановка реакции Райта :
7. Пробирки 6шт-8 наборов
8. Исследуемая сыворотка -8 шт.
9. Бруцеллезный диагностикум – 8 шт.
10. Пипетки-дозаторы 1,0 -8шт.
11. Реакция Хеддельсона на стекле (демонстрация)
12. Бак препараты
13. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ БРУЦЕЛЛЕЗА

В сыворотке больных бруцеллезом накапливаются агглютинирующие (вначале Ig M, затем Ig G), неполные блокирующие (Ig A , IgG) и опсонические (Ig G) антитела. Для их выявления с диагностической целью используют реакцию Райта и Хедельсона. Реакция агглютинации- один из основных диагностических методов при бруцеллезе.

1. Постановка реакции Райта проводится с целью определения содержания в сыворотке крови больного специфичных антител. Компоненты реакции:

а) исследуемая сыворотка в разведении 1:25;

б) антиген — взвесь убитых бруцелл (диагностикум Райта).

СХЕМА РЕАКЦИИ РАЙТА.

№ пробирок / Компоненты	1	2	3	4	5	6	7
5. Физиологический раствор	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
6. Сыворотка больного (1:25)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
7. Разведения сыворотки	1:50	1:100	1: 200	1:400	1:800	-	-
8. Диагностикум Райта	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-

Учет результатов проводится через 18-20 часов, поэтому на занятии предлагается демонстрация реакции Райта. Студенты проводят учет результатов и делают вывод.

2. Постановка реакции Хеддельсона.

Реакция ставится при массовом обследовании на бруцеллез с использованием стеклянных пластин. Компоненты реакции:

а) неразведенная сыворотка крови больного;

б) антиген - взвесь убитых и окрашенных кристалл-виолетом бруцелл.

СХЕМА РЕАКЦИИ ХЕДДЕЛЬСОНА

№ квадратов / Компоненты	1	2	3	4	Контроль	
					сыворотка	антиген
1. Физиологический раствор	-	-			0,03	0,03
2. Сыворотка больного	0,08	0,04	0,02	0,01	0,02	-
3. Диагностикум Райта	0,03	0,03	0,03	0,03	-	0,03

Студенты проводят реакцию самостоятельно и делает заключение.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты Исследования	Графическое изображение

Бруцеллёз (лат. brucellosis) — зоонозная инфекция, передающаяся от больных животных человеку, характеризующаяся множественным поражением органов и систем организма человека.

Возбудитель заболевания — группа микроорганизмов рода бруцелл. Патогенными для человека являются три: возбудитель бруцеллёза мелкого рогатого скота (Brucella melitensis), возбудитель бруцеллёза крупного рогатого скота (Brucella abortus), возбудитель бруцеллёза свиней (Brucella suis).

Возбудители бруцеллёза — бактерии рода бруцелла — хорошо переносят низкие температуры и замораживание, в воде сохраняются до 5 мес, в почве — 3 мес. и более, в коровьем молоке — до 45 дней, в брынзе — до 60 дней, в масле, сливках, простокваше и свежих сырах — в течение всего периода их пищевой ценности; в замороженном мясе — св. 5 мес, в засоленных шкурах — 2 мес, в шерсти — до 3—4 мес. При кипячении и пастеризации молока бруцеллы погибают. Дезинфицирующие средства убивают бактерии в течение нескольких минут.

Наиболее часто бруцеллёзом болеют домашние животные (козы, овцы, коровы, свиньи), при этом у животных наблюдаются аборты и рождение мертвого плода. Бруцеллы выделяются в окружающую среду с молоком, мочой больных животных и отделяемым матки (во время аборта). Возбудители бруцеллёза также содержатся в мясе больных животных.

В организм человека бруцеллы проникают через слизистые оболочки пищеварительного и дыхательного тракта, а также через поврежденную кожу (ссадины, царапины). Человек заражается бруцеллёзом при употреблении сырого молока от больных животных и приготовленных из него молочных продуктов (сыр, масло, творог, брынза), а также недостаточно проваренного и прожаренного мяса. Заражение может произойти и на производстве, связанном с обработкой кожи и шерсти, а также при уходе за больными животными и через предметы, зараженные их выделениями. Наиболее часто болеют доярки, телятницы, пастухи, чабаны, вет. работники, зоотехники.

Инкубационный период (скрытый) продолжается от одной недели до нескольких месяцев, чаще 1—3 нед. бруцеллёз характеризуется многообразием клинических симптомов; течение его может быть различной степени тяжести. Заболевание начинается постепенно: появляются недомогание, бессонница, иногда раздражительность, головная боль, боли в мышцах и суставах, снижается аппетит, температура повышается до 37,1—37,3°. Чаще бруцеллёз начинается остро: температура повышается до 39— 40°, появляются озноб, слабость, обильное потоотделение, резкие боли в мышцах, тугоподвижность и боли в суставах. Характерно поражение кровеносных сосудов, нервной системы и костносуставного аппарата, иногда могут быть психические расстройства. Болезнь длится в среднем 3 мес, но может затягиваться до 1—2 лет и более. Стойкие остаточные явления после перенесенного бруцеллёза могут привести к инвалидности. У беременных женщин при бруцеллёзе возможен самопроизвольный выкидыш.

Лабораторное подтверждение бруцеллеза существенно ограничено тем, что бруцеллы относятся к опасным возбудителям, выделение которых может проводиться только

в специальных лабораториях, оборудованных в соответствии с требованиями профилактики. При серологических и аллергологических исследованиях нужно учитывать, что у привитых против бруцеллеза (прививаются группы риска, профессионально контактирующие с животными) могут быть и довольно длительное время положительные результаты как серологических реакций, так и особенно аллергических проб.

Из серологических реакций наиболее информативной является реакция агглютинации (реакция Райта). Агглютинация на стекле (реакция Хеддльсона) для диагностики не используется, она предложена для выявления лиц, подлежащих обследованию на бруцеллез, при массовых обследованиях по эпидемиологическим показаниям. Реакция Хеддльсона часто дает ложноположительные результаты. В какой-то степени это связано с перекрестными реакциями с рядом антигенов (иерсинии, возбудитель туляремии, противохолерная вакцинация и др.). Следует учитывать, что Br. melitensis и Br. abortus имеют перекрестные реакции между собой, но не с Br. canis, так что для выявления антител к этой бруцелле необходим специальный диагностикум, который пока еще не выпускается. Возможно, это одна из причин редкого выявления данной разновидности бруцеллеза.

При остросептической форме бруцеллеза антитела начинают выявляться на 2-й неделе болезни и в дальнейшем титр их нарастает. Аллергическая проба становится положительной в конце 1-й и на 2-й неделе. При хронических формах нарастания титра антител часто выявить не удается. Следует учитывать, что постановка аллергической пробы (проба Бюрне) может приводить к появлению антител или к нарастанию титра. Другие серологические реакции (РСК, РПГА, ОФР) менее информативны по сравнению с реакцией Райта и не имеют существенного значения. Отрицательные результаты пробы Бюрне позволяют исключить бруцеллез (за исключением ВИЧ-инфицированных, у которых исчезают все реакции ГЗТ).

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №8

ТЕМА: ***БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КОНТАКТНЫХ ИНФЕКЦИИЙ (возбудители сибирской язвы и чумы).***

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сибирской язвы и чумы.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителя сибирской язвы и чумы
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемого заболевания.
7. Принципы микробиологической диагностики сибирской язвы и чумы.
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сибирской язвы и чумы.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Постановка реакции термокольцепреципитации по Асколи.

2. Учет реакции РП по Асколи и сделать заключение.

3. Демонстрационный мазок из автоклавированного гноя карбункула от больного сибирской язвой. Окраска по Граму.

ОСНАЩЕНИЕ

1.Набор для бактериологического исследования
Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.
2.Микроскопы – 8шт.
Иммерсионное масло
5. Набор красок по Граму – 8шт.
6. Пробирки с антракоидом для окраски по Граму– 8шт.
7. Реакция Асколи:
8. Пастеровские пипетки
9. Преципитиноген -4 шт.
10. Узкие пробирки с иммунной сывороткой
11. Узкие пробирки с нормальной сывороткой – 4 шт.
12. Демонстрация: микропрепараты возбудителя сибирской язвы и чумы
13. Бак препараты
14. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сибиреязвенные бациллы – очень крупные (6-10 мкм) грамположительные палочки с обрубленными концам, в мазке из чистой культуры располагаются короткими цепочками (стрептобациллы). Неподвижны, образуют расположенные центрально споры, а также капсулы.

Культуральные свойства: Сибиреязвенные бациллы – аэробы. Хорошо растут на простых питательных средах, при температуре 12-45 С. На жидких средах дают придонный рост в виде комочка ваты; на плотных средах образуют крупные, с неровными краями, шероховатые матовые колонии под лупой колонии напоминают гриву льва или голову медузы. На средах, содержащих 0,05- 0,5 ЕД/мл пенициллина, через 3-6 ч роста сибиреязвенные бациллы образуют сферопласты, расположенные цепочкой и напоминающие в мазке жемчужное ожерелье .

Биохимические свойства: Ферментирует до кислоты глюкозу, сахорозу, мальтозу, крахмал, инулин; обладают протеолитической и липолитической активностью. Выделяет желатиназу, проявляют низкую гемолитическую, лецитиназную и фосфатазную активность.

Антигены и факторы патогенности: Содержат родовой соматический полисахаридный и видовой белковый капсульный антигены. Образуют белковый экзотоксин, обладающий антигенными свойствами и состоящий из нескольких компонентов (летальный, протективный и вызывающий отеки). Патогенен для человека и многих животных.

Резистентность: Вегетативная форма неустойчива к факторам окружающей среды, однако споры чрезвычайно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятки лет, выдерживают кипячение и автоклавирование. Сибиреязвенные бациллы чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам; споры устойчивы к антисептикам и дезинфектантам. Спороцидным эффектом обладают активированные растворы хлорамина, горячего формальдегида, перекиси водорода.

Эпидемиология и патогенез: Источник инфекции - больные животные. Чаще крупный рогатый скот: овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды, свиньи. Человек является биологическим тупиком. Для сибирской язвы характерно множественность механизмов, путей и факторов передачи. Человек заражается в основном контактным путем, реже алиментарно, аэрогенно и др. при уходе за больными животными, убое, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов. Восприимчивость к возбудителю относительно невысокая.

Входными воротами инфекции в большинстве случаев являются поврежденная кожа, значительно реже слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. В основе патогенеза лежит действие экзотоксина возбудителя, отдельные фракции которого вызывают коагуляцию белков, отек тканей, приводят к развитию инфекционно-токсического шока.

Клиническая картина: Различают кожную, легочную и кишечную формы сибирской язвы. При кожной форме на месте внедрения возбудителя появляется характерный сибиреязвенный карбункул (геморрагически-некротическое воспаление глубоких слоев кожи с некрозом кожи и образованием буро-черной корки), эта форма сопровождается отеком. Легочная и кишечная формы относятся к генерализованным формам и выражаются геморрагическим и некротическим поражением соответствующих органов.

Продолжительность инкубационного периода - от нескольких часов до 8 дней, в среднем 2-3 дня. Генерализованные формы в 100% случаев заканчиваются летально.

Микробиологическая диагностика: Материалом для исследования служат содержимое карбункула, мокрота, кал, кровь, моча. Микробиологическую диагностику проводят с соблюдением правил техники безопасности, как при особо опасных инфекциях. Для диагностики применяют все 5 методов микробиологической диагностики. Мазки окрашивают по грамму, а для обнаружения капсул - по Рамановскому–Гимзе, спор - по Ожешке. Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на мясопептонный агар и мясопептонный бульон, а также заражают лабораторных животных (белых мышей, морских свинок). Выделенную чистую культуру идентифицируют по общепринятой схеме с учетом морфологии, характера роста на МПА и МПБ, биохимических и культуральных свойств. Сибиреязвенные антигены определяют в РИФ и реакции термопреципитации по Асколи исследуют также трупы животных, кожу и изделия из нее, шкурки, меха, шерсть и прочие изделия из животного сырья.

Лечение: Применяют антибиотики и сибиреязвенные иммуноглобулин.

Профилактика: Для специфической профилактики используют живую сибиреязвенную вакцину СТИ (санитарно-технический институт). Для экстренной профилактики назначают сибиреязвенный иммуноглобулин.

Чума (лат. pestis — зараза) — острое природно-очаговое инфекционное заболевание группы карантинных инфекций, протекающее с исключительно тяжёлым общим состоянием, лихорадкой, поражением лимфоузлов, лёгких и других внутренних органов, часто с развитием сепсиса. Заболевание характеризуется высокой летальностью и крайне высокой заразностью.

Чумная палочка (лат. Yersinia pestis) — бактерия, открытая в 1894 году одновременно двумя учёными: французом Александром Йерсеном и японцем Китасато Сибасабуро.

Инкубационный период длится от нескольких часов до 3—6 дней. Наиболее распространённые формы чумы — бубонная и лёгочная. Смертность при бубонной форме чумы достигала 95 %, при лёгочной — 98-99 %. В настоящее время при правильном лечении смертность составляет 5-10 %.

Известные эпидемии чумы, унёсшие миллионы жизней, оставили глубокий след в истории человечества.

Возбудитель чумы устойчив к низким температурам, хорошо сохраняется в мокроте, но при температуре 55 °C погибает в течение 10—15 мин, а при кипячении — практически немедленно. Попадает в организм через кожу (при укусе блохи, как правило, Xenopsylla cheopis), слизистые оболочки дыхательных путей, пищеварительного тракта, конъюнктивы.

По основному носителю природные очаги чумы подразделяют на сусликовые, сурочьи, песчаночьи, полевочьи и пищуховые. Помимо диких грызунов, в эпизоотический процесс иногда включаются так называемые синантропные грызуны (в частности, крысы и мышевидные), а также некоторые дикие животные (зайцы, лисы), являющиеся объектом охоты. Из домашних животных чумой болеют верблюды.

В природном очаге заражение обычно происходит через укус блохи, ранее питавшейся на больном грызуне. При укусе заражённых чумными бактериями блох у человека на месте укуса может возникнуть папула или пустула, наполненная геморрагическим содержимым (кожная форма). Затем процесс распространяется по лимфатическим сосудам без проявления лимфангита. Размножение бактерий в макрофагах лимфатических узлов приводит к их резкому увеличению, слиянию и образованию конгломерата (бубонная форма). Дальнейшая генерализация инфекции, которая не является строго обязательной, тем более в условиях современной антибактериальной терапии, может приводить к развитию септической формы, сопровождающейся поражением практически всех внутренних органов. Однако с эпидемиологических позиций важнейшую роль играют «отсевы» инфекции в лёгочную ткань с развитием лёгочной формы болезни. С момента развития чумной пневмонии больной человек сам становится источником заражения, но при этом от человека к человеку уже передаётся лёгочная форма болезни — крайне опасная, с очень быстрым течением.

Установление точного диагноза необходимо осуществить с помощью бактериологических исследований. Материалом для них является пунктат нагноившегося лимфатического узла, мокрота, кровь больного, отделяемое свищей и язв.

Лабораторная диагностика осуществляется с помощью флюоресцентной специфической антисыворотки, которой окрашивают мазки отделяемого язв, пунктата лимфатических узлов, культуры, полученной на кровяном агаре.

Впервые вакцину против чумы создал в начале XX века Владимир Хавкин.

Лечение больных чумой в настоящее время сводится к применению антибиотиков, сульфаниламидов и лечебной противочумной сыворотки. Профилактика возможных очагов заболевания заключается в проведении специальных карантинных мероприятий в портовых городах, дератизации всех судов, которые ходят международными рейсами, создании специальных противочумных учреждений в степных местностях, где водятся грызуны, выявлении эпизоотий чумы среди грызунов и борьбе с ними. Вспышки заболевания до сих пор встречаются в некоторых странах Азии, Африки и Южной Америки.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №9

ТЕМА: Диагностика риккетсиозов, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей сыпного тифа,

хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов

Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сыпного тифа, хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА.

1.Постановка реакции связывания комплемента при сыпном тифе с двумя антигенами (из риккетсии Провачека и Музера). Учет результатов РСК(демонстрация).
2.Постановка реакцию агглютинации при сыпном тифе (реакция Вейля-Феликса -к протею ОХ19). Учет результатов РА (демонстрация).
3. Постановка РНГА при сыпном тифе (с эритроцитарным антигеном).
4. Постановка РПГА с эритроцитарным диагностикумом при чуме. Учет результатов РПГА (демонстрация).
5.Постановка реакцию иммунофлюоресценции (демонстрация).
6.Микроскопия готовых препаратов с возбудителем хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов и риккетсиями.

ОСНАЩЕНИЕ

1.Учет результатов РСК(демонстрация).
2. Учет результатов РА (демонстрация).
3. Учет результатов РПГА (демонстрация).
5.Постановка реакцию иммунофлюоресценции (демонстрация).
6.Микроскопия готовых препаратов с возбудителем хламидиозов, микоплазмозов, эрлихиозов и риккетсиями.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сыпной тиф — группа инфекционных заболеваний, вызываемых риккетсиями, общее острое инфекционное заболевание, передающееся от больного человека к здоровому через вшей.

*Эпидемиология.*В настоящее время высокая заболеваемость сыпным тифом сохранилась лишь в некоторых развивающихся странах. Однако многолетнее сохранение риккетсий у ранее переболевших сыпным тифом и периодическое появление рецидивов в виде болезни Брилля—Цинссера не возможно при ухудшении социальных условий (повышенная миграция населения, педикулез, ухудшение питания и др.).

Источником инфекции является больной человек, начиная с последних 2—3 дней инкубационного периода и до 7—8-го дня с момента нормализации температуры тела. После этого, хотя риккетсий могут длительно сохраняться в организме, реконвалесцент уже опасности для окружающих не представляет. Сыпной тиф передается через вшей, преимущественно через платяных, реже через головных. После питания кровью больного вошь становится заразной через 5—6 дней и до конца жизни (то есть 30—40 дней). Заражение человека происходит путем втирания фекалий вшей в повреждения кожи (в расчесы). Известны случаи инфицирования при переливании крови, взятой у доноров в последние дни инкубационного периода. Риккетсия, циркулирующая в Северной Америке (R. canada), передается клещами.

Эндемический сыпной тиф

Эндемический сыпной тиф (крысиный, блошиный или американский сыпной тиф) вызывается риккетсиями R. mooseri. В США ежегодно регистрируется около 40 случаев заболевания. Оно встречается в регионах с относительно теплым климатом в обоих

полушариях, преимущественно летом и в основном среди сельских жителей; протекает легче, чем эпидемический тиф. Это болезнь главным образом крыс, которая передается человеку при укусе крысиными блохами. Поэтому борьба с крысами чрезвычайно важна как мера профилактики.

Эпидемический сыпной тиф

Эпидемический сыпной тиф, известный также как классический, европейский или вшивый сыпной тиф, корабельная или тюремная лихорадка, вызывается риккетсиями Провачека.

Возбудитель - грамотрицательная мелкая неподвижная бактерия Rickettsia prowazeki. Спор и капсул не образует, морфологически полиморфна: может иметь вид кокков, палочек; все формы сохраняют патогенность. Обычно их окрашивают по методу Романовского-Гимзы или серебрением по Морозову. Культивируют на сложных питательных средах, в куриных эмбрионах, в лёгких белых мышей. Размножаются только в цитоплазме и никогда в ядрах инфицированных клеток. Обладают соматическим термостабильным и типоспецифическим термолабильным антигеном, содержат гемолизины и эндотоксины. В испражнениях вшей, попадающих на одежду, сохраняет жизнеспособность и патогенность в течение 3 мес и более. При температуре 56 °С погибает за 10 мин, при 100 °С - за 30 с. Быстро инактивируется под действием хлорамина, формалина, лизола, кислот, щелочей в обычных концентрациях. Отнесена ко второй группе патогенности.

Патогенез.

Воротами инфекции являются мелкие повреждения кожи (чаще расчесы), уже через 5—15 мин риккетсий проникают в кровь. Размножение риккетсий происходит внутриклеточно в эндотелии сосудов. Это приводит к набуханию и десквамации эндотелиальных клеток. Попавшие в ток крови клетки разрушаются, высвобождающиеся при этом риккетсий поражают новые эндотелиальные клетки. Наиболее бурно процесс размножения риккетсий происходит в последние дни инкубационного периода и в первые дни лихорадки.

Диагноз спорадических случаев в начальный период болезни (до появления типичной экзантемы) очень труден. Серологические реакции становятся положительными также лишь с 4—7-го дня от начала болезни. Во время эпидемических вспышек диагноз облегчается эпидемиологическими данными (сведения о заболеваемости, наличии завшивленности, контакт с больными сыпным тифом и др.). При появлении экзантемы (то есть с 4—6-го дня болезни) клинический диагноз уже возможен. Сроки появления и характер сыпи, гиперемия лица, энантема Розенберга, пятна Киари—Авцына, изменения со стороны нервной системы — все это позволяет дифференцировать в первую очередь от брюшного тифа (постепенное начало, заторможенность больных, изменения со стороны органов пищеварения, более позднее появление экзантемы в виде розеоло-папулезной мономорфной сыпи, отсутствие петехий и др.).

Необходимо дифференцировать и от других инфекционных болезней, протекающих с экзантемой, в частности, с другими риккетсиозами (эндемический сыпной тиф, клещевой риккетсиоз Северной Азии и др.). Некоторое дифференциально-диагностическое значение имеет картина крови. При сыпном тифе характерным является умеренный нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом, эозинопения и лимфопения, умеренное повышение СОЭ.

Для подтверждения диагноза используют различные серологические реакции. Сохранила некоторое значение реакция Вейля—Феликса — реакция агглютинации с протеем OXig, особенно при нарастании титра антител в ходе болезни. Чаще используют РСК с риккетсиозным антигеном (приготовленным из риккетсий Провачека), диагностическим титром считается 1:160 и выше, а также нарастание титра антител. Используют и другие серологические реакции (реакция микроагглютинации, гемагглютинации и др.).

В меморандуме совещания ВОЗ по риккетсиозам (1993) в качестве рекомендуемой диагностической процедуры рекомендована непрямая реакция иммунофлюоресценции. В острую фазу болезни (и периода реконвалесценции) антитела связаны с IgM, что используется для отличия от антител в результате ранее перенесенной болезни. Антитела

начинают выявляться в сыворотке крови с 4—7-го дня от начала болезни, максимального титра достигают через 4-6 нед от начала заболевания, затем титры медленно снижаются. После перенесенного сыпного тифа риккетсий Провачека в течение многих лет сохраняются в организме реконвалесцента, это обусловливает длительное сохранение антител (связаны с IgG также в течение многих лет, хотя и в невысоких титрах). В последнее время с диагностическими целями используют пробную терапию антибиотиками тетрациклиновой группы. Если при назначении тетрациклина (в обычных терапевтических дозах) через 24—48 ч не наступает нормализация температуры тела, то это позволяет исключить сыпной тиф (если лихорадка не связана с каким-либо осложнением).

Основным *этиотропным препаратом* в настоящее время являются антибиотики тетрациклиновой группы, при непереносимости их эффективным оказывается и левомицетин (хлорамфеникол).

Для *профилактики* сыпного тифа большое значение имеет борьба со вшивостью, ранняя диагностика, изоляция и госпитализация больных сыпным тифом, необходима тщательная санитарная обработка больных в приемном покое стационара и дезинсекция одежды больного. *Для специфической профилактики* использовалась инактивированная формалином вакцина, содержащая убитые риккетсии Провачека. Вакцины использовались во время повышенной заболеваемости и были эффективными. В настоящее время при наличии активных инсектицидов, эффективных методов этиотропной терапии и низкой заболеваемости значение противосыпнотифозной вакцинации значительно снизилось.

Причиной **урогенитальных хламидиозов** являются хламидии - грамотрицательные бактерии, которые утратили некоторые важные механизмы выработки метаболической энергии. Этот дефект обусловливает их внутриклеточный рост, благодаря которому они имеют доступ к богатым энергией промежуточным продуктам метаболизма. Их делят на два вида - Clamydia trachomatis, объединяющий возбудителей болезней человека, и Clamydia psitaci, включающий родственные микроорганизмы, первично поражающие млекопитающих и птиц. Вместе они образуют род Clamydia, представители которого обладают бактериоподобными морфологическими характеристиками и уникальным циклом развития.

Хламидии в процессе репродукции претерпевают ряд последовательных изменений. Инфекционная частица представляет собой маленькую клетку (элементарное тельце) диаметром около 0,3 мкм с электронно-плотным нуклеоидом. Эта частица проникает в клетку хозяина при фагоцитозе. Из поверхностных мембран клетки хозяина вокруг этой маленькой частицы образуется вакуоль. Маленькая частица превращается в крупную (ретикулярное тельце), диаметром 0,5-1,0 мкм, которая лишена электронно-плотного нуклеоида. Внутри образованной мембранной вакуоли крупная частица увеличивается и многократно делится путем образования поперечной перегородки. В конечном счете вся вакуоль заполняется мелкими частицами, образовавшимися из крупных телец при их поперечном делении, и превращается во "включение" в цитоплазме клетки хозяина. Новообразованные мелкие частицы могут выходить из клетки хозяина и инфицировать новые клетки. Цикл размножения хламидии реализуется при их взаимодействии с чувствительной клеткой и занимает 24-48 ч.

Хламидийная инфекция у мужчин и женщин наиболее часто имеет инкубационный период от 5-7 до 30 дней. Она может вызывать различную патологию.

У мужчин первично поражаются мочеиспускательный канал, а затем и другие органы (предстательная железа, семенные пузырьки, придатки). У женщин чаще поражается канал шейки матки, после чего может возникнуть и восходящая инфекция, захватывающая матку, маточные трубы, яичники, а также брюшину.

Хламидий не являются представителями нормальной микрофлоры человека. Их обнаружение указывает на инфекционный процесс, а отсутствие клинических симптомов заболевания определяет лишь временное равновесие между паразитом и хозяином в условиях, ограничивающих размножение патогенного внутриклеточного микроорганизма, но не препятствующих ему.

Клинически бессимптомиая хламидийная инфекция не менее опасна, чем ее

манифестные формы, и требует лечебных и профилактических мероприятий.

Для выявления хламидийной инфекции используют различные методы как прямого определения возбудителя, так и косвенного серологического обследования.

Материалом для исследования при урогенитальном хламидиозе являются мазки, соскобы со слизистой уретры, цервикального канала, шейки матки, прямой кишки, конъюнктивы, которые забирают специальной ложечкой, специальными тампонами, щеточками или платиновой петлей. Забор материала является самым ответственным этапом диагностики. При исследовании на хламидии культуральным методом пациенты не должны применять антибиотики и другие препараты, активные в отношении хламидии в течение месяца. Если используются цитологические методы, препараты нельзя применять за 2 недели до исследования.

Культуральиый метод выявления хламидий - "золотой стандарт" - является наиболее информативным (100% чувствительность), но в силу высокой стоимости и трудоемкости не имеет широкого распространения. Этот метод очень важен при подозрении на длительную инфекцию.

Цитологический метод заключается в микроскопическом исследовании поверхностных соскобов эпителиальных клеток, взятых из уретры, цервикального канала и других слизистых оболочек с целью обнаружить хламидии. В приготовленных мазках, которые преимущественно окрашивают, определяют наличие в клеточных элементах специфических хламидийных включений. Эти внутриклеточные включения чаще выявляются при свежей и нелеченной инфекции. Метод простой, доступный, однако недостаточно чувствительный; позволяет диагностировать хламидийную инфекцию не более чем у 15-20% больных.

Иммунофлюоресцентный метод - окрашивание хламидийных антигенов иммунофлюоресцентными красителями на основе моноклональных антител. Его недостатком является субъективность оценки результатов.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике хламидийной инфекции является методом определения специфического участка ДНК с помощью ДНК-анализатора. Он обладает очень высокой чувствительностью и специфичностью.

Серологический метод выявления хламидий - обнаружение антихламидийных антител в крови. При острой инфекции диагностическое значение имеет обнаружение хламидийных иммуноглобулинов М (IgM) -антител либо 4-кратное нарастание титров иммуноглобулина G (IgG) в динамике через 2 недели. Средние и низкие титры антител к хламидиям, как правило, характерны для хламидийной клетки, поглощенной *Trichomonas vaginalis* (во время лечения происходят разрушение трихомонадной клетки и выход во внеклеточное пространство новой порции хламидии, которые, в свою очередь, стимулируют выработку антител в организме). Нельзя с уверенностью заявлять об инфицированной хламидиозом лишь на основании наличия антихламидийных антител. Только сочетание различных методов (не менее 2 одновременно и один из них ПЦР) дает необходимую точность диагностики урогенитального хламидиоза как для постановки первичного диагноза, так и для контроля излеченности.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №10

СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ: КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ ПАТОГЕННЫЕ АНАЭРОБЫ, ЗООНОЗЫ, РИККЕТСИОЗЫ, ХЛАМИДИОЗЫ, МИКОПЛАЗМОЗЫ, ЭРЛИХИОЗЫ

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №11

ТЕМА: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ И КОКЛЮША.

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша.

ПЛАН:

1.Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, 4.Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики дифтерии, коклюша.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Приготоление мазка и окраска по методу Нейссера.
2. Приготовление мазка и окраска по методу Грама.
3.Определение токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Проведение проб на цистиназу и на уреазу дифтерийных и ложно -дифтерийных палочек.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
   Штатив – 8шт.
   Пинцет -8 шт.
   Бактериологическая петля -8 шт.
   Флакон с физ.р-ром – 8шт.
   Спиртовка -8 шт.
2. Микроскопы – 8шт.
   Иммерсионное масло
3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. Набор красок по Нейссеру – 8шт.
5. Пробирки с дифтироидом – 8шт.
6. Демонстрация: токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
7. Демонстрация: микропрепарата возбудителя дифтерии.

8. Демонстрация: пробы Пизу, пробы Закса
9. Бак. препараты
10. Таблицы.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Дифтерийная палочка (Corynebacterium diphtheriae) — грамположительные палочковидные бактерии рода Corynebacterium. Впервые возбудитель был обнаружен на срезах пленок, полученных из ротоглотки больных в 1883 г. Эдвином Клебсом (нем. Edwin Klebs, 1834—1913). Через год Фридрихом Лёффлером (нем. Friedrich August Johannes Löffler, 1852—1915) была выделена чистая культура. Дифтерийный токсин получили Э. Ру и А. Иерсен (1884—1888 гг.). Анатоксин обнаружил Рамон Гастон в 1923 г. и предложил использовать его для активной иммунизации. Corynebacterium diphtheriae — крупные (1—8 × 0,3—0,8 мкм) прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метахроматические зёрна волютина, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. На микропрепаратах располагаются одиночно или вследствие особенностей деления клеток располагаются в форме латинской буквы V или Y. Спор и капсул не образуют.

Эпидемиология. Источником инфекции при дифтерии являются люди - больные или здоровые носители токсигенных дифтерийных микробов. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные дифтерией зева, носа и гортани, активно выделяющие возбудителей заболевания во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. Незначительное в этом отношении значение играют больные дифтерией глаз, кожи, раны и других локализаций, способные распространять инфекцию контактным путем (через руки, предметы быта).

Патогенез. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых) макроорганизма. Однако наиболее часто ими является слизистая оболочка ротоглотки, намного реже - гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. Токсигенные коринебактерии фиксируются на клетках тканей, размножаются и в процессе жизнедеятельности продуцируют экзотоксин, оказывающий местное и общее воздействие, обусловливающее практически все проявления патологического процесса. Микробные клетки за пределы тканей, являющихся воротами инфекции, как правило, не распространяются и непосредственного участия в поражении макроорганизма не принимают.

Дифтерийный экзотоксин состоит из нескольких фракций, каждая из которых обладает самостоятельным биологическим действием. Одна из них - гиалуронидаза: разрушает гиалуроновую кислоту капилляр и повышает их проницаемость. Это ведет к выходу за пределы сосудов жидкой части крови, пропитыванию пораженных тканей плазмой, содержащей наряду с другими компонентами фибриноген. Вторая - некротоксин - вызывает некроз эпителия на месте ворот инфекции, сопровождающийся выделением из эпителиальных клеток тромбокиназы. Последняя способствует превращению фибриногена в фибрин и образованию на поверхности пораженных тканей фибринной пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибринная пленка проникает глубоко внутрь эпителиального покрова и плотно спаяна с тканями. Третья фракция дифтерийного токсина - истинный дифтерийный токсин (основной его компонент) способен вытеснять из клеточных структур цитохром Б и таким образом блокировать в них процессы клеточного дыхания и синтеза белковых молекул. Наиболее чувствительными к этим изменениям являются миокард, капилляры и нервные клетки. В кардиомиоцитах развиваются явления миокардиодистрофии с последующим их некрозом, миолизом и развитием инфекционно-токсического миокардита. Поражение капилляров при дифтерии сопровождается инфекционно-токсическим шоком. Повреждение нервных клеток сопровождается дистрофическими изменениями швановских клеток и демиэлинизацией нервных волокон. Наряду с отмеченным, общее действие дифтерийного токсина проявляется явлениями общей интоксикации.

Основу лабораторной диагностики составляют бактериологические исследования: выделение возбудителя из очага воспаления, определение его типа и токсигенности. Материал отбирают стерильными ватными тампонами, сухими или смоченными (до стерилизации!) 5% раствором глицерина. При хранении и транспортировке тампоны предохраняют от охлаждения и высыхания. Материал должен быть посеян не позднее 2-4 ч после взятия. У больных ангиной, бывших в контакте с больными дифтерией, а также у лиц с типичными клиническими проявлениями дифтерии диагноз ставят даже при отрицательном результате бактериологического исследования.

Вспомогательное значение имеет определение титров антитоксических антител в парных сыворотках при постановке РНГА. Токсинообразование выявляют, используя РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом. Для выявления дифтерийного токсина предложено использовать ПЦР.

Основным в лечении дифтерии считают введение антитоксической противодифтерийной сыворотки. Она нейтрализует токсин, циркулирующий в крови, следовательно, оказывает наибольший эффект при раннем применении

Профилактические мероприятия. Вакцинопрофилактика остаётся основным способом контроля дифтерии. Схема иммунизации детей предусматривает иммунизацию вакциной АКДС начиная с 3 мес жизни (вакцинируют 3-кратно с интервалом 30-40 дней). Ревакцинацию проводят через 9-12 мес после законченной вакцинации. Для ревакцинации в 6-7, 11-12 и 16-17 лет применяют АДС-М. В отдельных случаях, например при противопоказаниях к коклюшному компоненту АКДС, АДС-М применяют и для вакцинации.

Коклюш (wooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракоклюш - острые инфекционные болезни, клинически неотличимые друг от друга. Характеризуется острым катаром дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Возбудитель коклюша (Bordetella pertussis) представляет собой короткую палочку с закругленными концами (0,2-1,2 мкм), грамотрицательную, неподвижную, хорошо окрашивающуюся анилиновыми красками. В антигенном отношении неоднородна. Антиген, который обусловливает образование агглютининов (агглютиноген), состоит из нескольких компонентов. Они названы факторами и обозначаются цифрами от 1 до 14. Фактор 7 является родовым, фактор 1 содержит B. pertussis, 14 - B. parapertussis, остальные встречаются в разных комбинациях; для возбудителя коклюша это факторы 2, 3, 4, 5, 6, для паракоклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракоклюша очень неустойчивы во внешней среде, поэтому посев нужно делать сразу же после взятия материала. Бактерии быстро погибают при высушивании, ультрафиолетовом облучении, под влиянием дезинфицирующих средств. Чувствительны к эритромицину, левомицетину, антибиотикам тетрациклиновой группы, стрептомицину.

Патогенез. Воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Коклюшные микробы прикрепляются к клеткам мерцательного эпителия, где они размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. На месте внедрения возбудителя развивается воспалительный процесс, угнетается деятельность ресничного аппарата клеток эпителия и увеличивается секреция слизи. В дальнейшем происходит изъязвление эпителия дыхательных путей и очаговый некроз. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, менее выраженные изменения развиваются в трахее, гортани и носоглотке. Слизисто-гнойные пробочки закупоривают просвет мелких бронхов, развивается очаговый ателектаз, эмфизема. Наблюдается перибронхиальная инфильтрация. В генезе судорожных приступов имеет значение сенсибилизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обусловливает кашель и приводит к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты. Вследствие этого типичные приступы спазматического кашля могут быть вызваны и неспецифическими

раздражителями. Из доминантного очага возбуждение может иррадиировать и на другие отделы нервной системы, например на сосудодвигательный (повышение АД, спазм сосудов). Иррадиацией возбуждения объясняется также появление судорожных сокращений мышц лица и туловища, рвоты и других симптомов коклюша. Перенесенный коклюш (как и противококлюшные прививки) не обеспечивает напряженного пожизненного иммунитета, поэтому возможны повторные заболевания коклюшем (около 5% случаев коклюша приходится на взрослых людей).

Достоверный диагноз в катаральном периоде может быть поставлен после получения результатов бактериологических исследований. Основанием для исследования в этих случаях обычно служат эпидемиологические данные (контакт с больными коклюшем, отсутствие данных о прививках и др.). В периоде спазматического кашля диагноз коклюша поставить значительно легче, так как появляются типичные приступы. Однако нужно учитывать, что иногда приступы кашля, сходные с коклюшными, могут быть обусловлены другими причинами (аденовирусная инфекция, вирусные пневмонии, сдавление дыхательных путей при злокачественных новообразованиях, инфекционном мононуклеозе и др.), с другой стороны, коклюш может протекать атипично без характерных приступов (у привитых детей, у взрослых). Основным методом лабораторного подтверждения диагноза является выделение возбудителя коклюша. Частота выделения зависит от сроков взятия материала; на 1-й неделе заболевания положительные результаты удается получить у 95% больных, на 4-й - лишь у 50%, а начиная с 5-й недели, микроб выделить уже не удается. Материал из носоглотки берут сухим тампоном с немедленным посевом на чашки с селективной питательной средой. Используют также метод "кашлевых пластинок", при котором чашка Петри с питательной средой устанавливается перед ртом кашляющего ребенка (на расстоянии около 10 см), удерживается в таком положении несколько секунд, чтобы уловить 5-6 кашлевых толчков. Чашку с посевом быстро закрывают крышкой и помещают в термостат. При транспортировке оберегают от охлаждения (заворачивают в бумагу, вату, в контейнер помещают грелку, заполненную горячей водой). Однако по частоте выделения возбудителей коклюша метод "кашлевых пластинок" значительно уступает взятию материала тампоном. Серологические методы можно использовать для ретроспективной диагностики, а также у больных с отрицательными результатами бактериологических исследований. Из старых методов можно использовать РСК, РПГА, реакцию агглютинации. Диагностическим считается нарастание титров антител в 4 раза и более, а также высокие титры антител (1:80 и выше).

В последнее время успешно используют иммуноферментный метод для обнаружения антител в сыворотке (иммуноглобулины класса М) и в носоглоточной слизи (иммуноглобулины класса А). Эти антитела появляются со 2-3-й недели болезни и сохраняются в течение 3 мес.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №12

ТЕМА: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕПРЫ

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики туберкулеза.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей туберкулеза.
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
7. Принципы микробиологической диагностики туберкулеза.
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики туберкулеза.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Микроскопировать микропрепараты: микобактерий туберкулеза, менингококков.
2. Изучить схему лабораторной диагностики туберкулеза.
3.Изучит метод микрокультивирования для экспресс-диагностики туберкулеза;
4. Микроскопировать и зарисовать демонстрационный препарат «микрокультура Мус. Tuberculosis».

ОСНАЩЕНИЕ

1. Демонстрация: микрокультуры по Прайсу
2. Демонстрация: микропрепаратов микобактерии туберкулеза
3. Бак. препараты
4. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Микобактерии относятся к семейству Mycobacteriaceae, роду Mycobacterium.

Различают: 1) Микобактерии человеческого типа (Mycobacterium tuberculosis), 2) микобактерии бычьего типа (Mycobacterium bovis), 3) микобактерии птичьего типа (Mycobacterium avium), 4) атипичные микобактерии, которые делят на четыре группы (по Раньону):

а) фотохромогенные бактерии, которые растут в темноте в течении 21-46 дней в виде беспигментных колоний, но после освещения дневным или электрическим светом приобретают желтую или оранжевую окраску. Патогенны для людей;

б) скотохромогенные бактерии, которые растут медленно (60-100 дней), образуют желто-оранжевый пигмент в темноте. Некоторые из них патогенны: вызывают поражение лимфатических узлов и легких у детей;

в) нефотохромогенные микобактерии, не образуют пигмента ни на свету, ни в темноте. Патогенны для человека;

г) быстрорастущие микобактерии, растут в течении нескольких дней в виде беспигментных колоний. К этой группе относятся как потенциально патогенные микобактерии, так и сапрофиты.

Возбудитель туберкулеза: Mycobacterium tuberculosis представляет собой тонкие, слегка изогнутые палочки длиной 2,5-3,5 мкм, отличаются большим полиморфизмом: длинные, ветвистые и зернистые формы. Mycobacterium bovis – короткие, толстые палочки, Mycobacterium avium – нитевидные, ветвистые формы.

Для постановки микробиологического диагноза используют микроскопический, бактериологический, биологический, серологический и аллергический методы исследования. Для исследования может поступить самый разнообразный материал в зависимости от того, где расположен патологический процесс: при туберкулезе легких – мокрота, при туберкулезе почек – моча, при туберкулезном менингите – спинномозговая жидкость

VI. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД

Исследуемый материал: мокрота, моча, спинномозговая жидкость. Для «обогащения» мокроты широко используются методы гомогенизации и флотации. При окраске мазков по Цилю-Нильсену туберкулезные палочки окрашиваются в ярко-красный цвет. Применение люминесцентной микроскопии повышает число находок туберкулезных палочек.

Микроскопическое исследование является ориентировочным и позволяет судить лишь о наличии кислотоустойчивых бактерий в материале без определения их видовой и типовой принадлежности.

VII. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Особенности метода

Для освобождения от сопутствующей микрофлоры исследуемый материал обрабатывают 10% серной кислотой или 4-6% раствором едкого натрия, а затем центрифугируют. Кислоту нейтрализуют и материал заливают в несколько пробирок со средой Левенштейна-Йенсена или другими специальными средами.

Посевы инкубируют при 37^0 С 4-6 недель и более, так как туберкулезная палочка размножается очень медленно, особенно в первых генерациях. Колонии имеют вид сероватого или светло-кремового морщинистого или крошкообразного сухого налета.

При индентификации чаще всего определяют способность выделенной культуры синтезировать никотиновую кислоту – ниациновая проба Конно – с помощью которой удается отличить M.tuberculosis, хорошо синтезирующие никотиновую кислоту, от палочек M.bovis, образующих ее в минимальных количествах. Атипичные микобактерии обладают высокой каталазной активностью. Пероксидазная активность у них не выявляется. Определение термостабильности каталазы позволяет отдифференцировать вирулентные для человека микобактерии (человеческого и бычьего типов), у которых она термолабильна, от кислотоупорных сапрофитов и атипичных микобактерий, которые образуют термостабильную каталазу.

Для ускоренной диагностики туберкулеза используют метод микрокультур Прайса. Для этого на нескольких предметных стеклах делают толстые мазки из исследуемого материала. Мазки обрабатывают 2-6 % серной кислотой и нейтрализуют щелочью. После этого их помещают во флаконы с гемолизированной цитратной кровью. Через 7-14 дней материал окрашивают по Цилю-Нильсену и микроскопируют – вирулентные штаммы образуют микрокультуры, имеющие вид жгутов или кос (наличие корд-фактора).

VIII. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Применяется с целью выделения чистой культуры возбудителя туберкулеза из органов животного, зараженного исследуемым материалом, а также для определения вирулентности микобактерий. Исследуемый материал обрабатывают серной кислотой для освобождения от посторонней микрофлоры, нейтрализуют и вводят подкожно морской свинке и кролику с отрицательными туберкулиновыми реакциями. Через 4 месяца, если животное не погибнет, его забивают, проводят макро- и микроскопические исследование органов и делают посевы. M.tuberculosis высокопатогенны для морских свинок и мало патогенны для кроликов. M.bovis высокопатогенны для кроликов.

IX. СЕРОДИАГНОСТИКА

Используют в качестве дополнительного текста РСК и РПГА. Положительные результаты отмечаются при активном туберкулезе, а также при инфицировании микобактериями туберкулеза и вакцинации

X. КОЖНО-АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ПРОБА

Ставится с туберкулином (PPO) – очищенной белковой фракцией, полученной из микобактерий туберкулеза, для характеристики, оценки течения туберкулезного процесса, определения эффективности вакцинации и отбора контингентов для ревакцинации против туберкулеза. Туберкулин вводят внутрикожно в строго определенной дозировке (реакция Манту). Результат учитывают через 24-48 часов по образованию гиперемии и папулы

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

Вакцина БЦЖ. Живая, лиофильно высушенная культура апатогенного штамма микобактерий туберкулеза, полученная французскими учеными А. Кальметтом и М. Гереном. Применяется внутрикожно для активной специфической профилактики туберкулеза.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №13

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики сифилиса.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей сифилиса.
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет сифилиса.
7. Принципы микробиологической диагностики сифилиса,
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики сифилиса.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Постановка реакции связывания комплемента Вассермана.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Демонстрация: РСК при сифилисе
2. Демонстрация: микропрепараты спирохет.
3. Бак. препараты
4. Таблицы

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сифилис — хроническое системное венерическое инфекционное заболевание с поражением кожи, слизистых оболочек, внутренних органов, костей, нервной системы с последовательной сменой стадий болезни, вызываемое бактериями вида *Treponema pallidum* (бледная трепонема) подвида *pallidum*, относящимся к роду трепонема (*Treponema*) семейства *Spirochaetaceae*.

Этиология. Сифилис передаётся в основном половым путём, в связи с чем относится к группе венерических заболеваний, или ИППП (инфекций, передаваемых половым путём). Однако возможна передача сифилиса и через кровь, например, при переливании крови заражённого сифилисом донора, или у инъекционных наркоманов при пользовании общими шприцами и/или общими ёмкостями для растворов наркотиков, или в быту при пользовании общим «кровавым» инструментом типа зубных щёток или бритв.

Бытовой «бескровный» путь заражения сифилисом также не исключён, но весьма редок и требует тесного контакта с больным третичным сифилисом, имеющим открытые сифилитические язвы или распадающиеся сифилитические гуммы, из которых возбудитель может попасть, например, на посуду, из которой пил больной. Также можно перечислить полотенца, ложки, зубные щетки, белье и пр. соприкасающиеся со слизистыми оболочками предметы. Способность мочи и пота больного передавать инфекцию не доказана, в слюне бледные трепонемы обнаруживаются только при наличии высыпаний в полости рта.

Возможно, заражение ребёнка молоком матери даже при отсутствии видимых изменений в области молочной железы, также заразной является сперма, даже при отсутствии видимых патологических очагов на половом члене больного. Медицинский персонал может заразиться заболеванием при осуществлении лечебно-диагностических мероприятий, а также при вскрытии трупов больных сифилисом, особенно опасны трупы детей с первично врождённой формой заболевания.

Патогенез. Инкубационный период первичной стадии сифилиса составляет в среднем 3 недели (интервал от нескольких суток до 6 недель) с момента заражения. По окончании инкубационного периода в случае полового или бытового заражения в месте проникновения микроба обычно развивается первичный аффек.

Патогенез сифилиса обусловлен реакцией организма на внедрение в организм больного бледной трепонемы. Особенностями возбудителя обусловливается полиморфность протекающих в зараженном организме процессов, в зависимости от стадии заболевания патологические изменения отличаются довольно значительно.

В классическом течении сифилитической инфекции принято выделять 4 периода:

- Инкубационный;
- Первичный;
- Вторичный;
- Третичный.

Последние три периода обнаруживаются характерной симптоматикой, инкубационный период никак себя не проявляет, и его сроки определяются лишь косвенно после появления клиники.

Диагностика. Диагноз сифилиса в ряде случаев можно заподозрить клинически, но основным методом диагностики и подтверждения предварительного диагноза является серодиагностика. В настоящее время для определения антител к возбудителю используется ИФА, ранее в России для этого применялась реакция Вассермана. Все методы диагностики сифилиса разделяются на следующие группы:

- Прямые и непрямые (косвенные)
- Трепонемные (специфические) и нетрепонемные (неспецифические)
- Отборочные (скрининговые) и подтверждающие (диагностические)
- Приборные, бесприборные.

Прямые трепонемные методы диагностики позволяют обнаружить возбудитель непосредственно в биоматериале. Такими методами являются темнопольная микроскопия, заражение сифилисом кроликов, культуральные методы, ПЦР диагностика.

Каждый из этих методов имеет свои специфические недостатки, которые ограничивают его массовое применение. Метод темнопольной микроскопии может обнаружить возбудитель только при свежем сифилисе, и с его помощью невозможно оценить динамику и эффективность лечения. Методика заражения сифилисом кроликов является дорогостоящей и медленной, и также не позволяет в динамике оценивать состояние больного. Выращивание бледной трепонемы на искусственных средах крайне затруднительно, в связи с чувствительностью возбудителя к условиям среды. Метод ПЦР диагностики позволяет эффективно обнаруживать возбудитель только при первичном и вторичном сифилисе, тест-системы относительно дороги, и исследования эффективности данного метода в диагностике сифилиса ещё продолжаются. Таким образом, мы видим, что методы прямой диагностики мало применимы в клинической практике, в связи с чем, основой диагностики являются различные серологические методики (непрямые).

В соответствии с действующим приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» при серо- и ликвородиагностике сифилиса допускается использование следующих реакций.

- Микрореакции преципитации (непрямой скрининговый метод)
- Реакции пассивной непрямой агглютинации (РПГА)
- Реакции иммунофлуоресценции (РИФ)
- Реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ)

- Иммуноферментный анализ не требуют отдельной регламентации в связи с чем, в приказе № 87 не указаны.

Следует отметить, что ни один из методов диагностики не гарантирует 100 % обнаружения возбудителя. Чувствительность методов составляет 90-98 %, поэтому одновременное использование 2 различных методов исследования может с очень высокой степенью достоверности установить верный диагноз.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №14

<u>СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ:</u> ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ,КОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЛЕПРЫ, СИФИЛИСА

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №15

<u>ТЕМА:</u> ДИАГНОСТИКА ОРВИ И ГРИППА

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.

<u>ПЛАН:</u>

2. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гриппа, ОРВИ,
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики гриппа, ОРВИ
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гриппа, ОРВИ, кори, краснухи, ветряной оспы, эпидемического паротита.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Разбор поставки и учет результатов РИФ при ОРВИ (демонстрация).
2. Разбор поставки и учет результатов РТГА для сероидентификации при гриппе (демонстрация).
3. Разбор поставки и учет результатов ИФА для серодиагностики при ОРВИ(демонстрация).

ОСНАЩЕНИЕ

1. учет результатов РИФ при ОРВИ (демонстрация).
2. учет результатов РТГА для сероидентификации при гриппе (демонстрация).
3. учет результатов ИФА для серодиагностики при ОРВИ(демонстрация).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Грипп (от фр. grippe) — острое инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое вирусом гриппа. Входит в группу острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Периодически распространяется в виде эпидемий и пандемий. В настоящее время выявлено более 2000 вариантов вируса гриппа, различающихся между собой антигенным спектром.

Впервые вирус был выделен в 30-е года XX века. Вирусы гриппа относятся к семейству Ortomyxoviridae, которое включает роды Influenza A, B, C. Антигенные свойства внутренних белков вириона (M1 и NP) определяют принадлежность вируса гриппа к роду A, B или C.

Эпидемическое значение для людей имеют вирусы, содержащие три подтипа HA (H1,H2,H3) и два подтипа NA (N1, N2). Вирусы гриппа A и B содержат NA и HA в качестве основных структурных и антигенных компонентов вирусной частицы, обладающих гемагглютинирующей и нейраминидазной активностями. У вируса гриппа C нет нейраминидазы, он обладает вместо этого гемагглютинин-эстеразным (проникающим) белком (HEF). Нить РНК окружена белком и упакована в липопротеидную мембрану. Вирионы способны агглютинировать эритроциты и элюироваться в них с помощью вирусспецифических ферментов.

Вирус гриппа имеет сферическую форму диаметром 80—120 нм, в центре находятся РНК-фрагменты, заключённые в липопротеидную оболочку, на поверхности которой имеются «шипы» состоящие из гемагглютинина (H) и из нейраминидазы (N). Антитела, вырабатываемые в ответ на гемагглютинин (H), составляют основу иммунитета против определённого подтипа возбудителя гриппа

Источником инфекции является больной человек с явной или стёртой формой болезни, выделяющий вирус с кашлем, чиханьем и т. д. Больной заразен с первых часов заболевания и до 5–7-го дня болезни.[5] Характеризуется аэрозольным (вдыхание мельчайших капель слюны, слизи, которые содержат вирус гриппа) механизмом передачи и чрезвычайно быстрым распространением в виде эпидемий и пандемий. Эпидемии гриппа, вызванные серотипом A, возникают примерно каждые 2—3 года, а вызванные серотипом B — каждые 4—6 лет. Серотип C не вызывает эпидемий, только единичные вспышки у детей и ослабленных людей. В виде эпидемий встречается чаще в осенне-зимний период. Периодичность эпидемий связана с частым изменением антигенной структуры вируса при пребываниии его в естественных условиях.

Входными воротами для вируса гриппа являются клетки мерцательного эпителия верхних дыхательных путей — носа, трахеи, бронхов. В этих клетках вирус размножается и приводит к их разрушению и гибели. Этим объясняется раздражение верхних дыхательных путей кашель, чихание, заложенность носа. Проникая в кровь и вызывая виремию, вирус оказывает непосредственное, токсическое действие, проявляющееся в виде повышения температуры, озноба, миалгий, головной боли. Кроме того, вирус повышает сосудистую проницаемость, вызывает развитие стазов и плазмо-геморрагий.

Традиционным способом предупреждения заболевания гриппом является вакцинация. Предложена вакцина для профилактики гриппа в форме живой, убитой (инактивированной), субъединичной вакцины. Вакцинация особенно показана в группах риска — дети, пожилые люди, больные с хроническими заболеваниями сердца и лёгких, а также врачи. Обычно осуществляется, когда эпидемиологический прогноз свидетельствует о целесообразности массовых мероприятий (обычно в середине осени). Возможна и вторая прививка в середине зимы.

Для быстрой диагностики гриппа используют "экспресс-метод" обнаружения вируса гриппа с помощью флуоресцирующих антител. Исследуемый материал берут из носа в первые дни болезни. Приготовленные из него мазки обрабатывают специфическими гриппозными флуоресцирующими сыворотками. Образовавшийся комплекс антиген-антитело ярко светится в ядре и цитоплазме клеток цилиндрического эпителия и отчетливо виден в люминесцентном микроскопе. Ответ можно получить через 2-3 ч.

Серологические исследования помогают ретроспективной диагностике гриппа. Исследуют парные сыворотки крови, взятые у больных в острый период болезни (до 5-го дня от начала заболевания) и в период реконвалесценции с интервалом 12-14 дней. Наиболее показательными в серологической диагностике являются реакция связывания комплемента (РСК) с гриппозными антигенами и реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКАТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №16

ТЕМА: ДИАГНОСТИКА ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ГЕПАТИТОВ, ГЕРПЕС И ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции.

ПЛАН:

5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции, герпеса
   Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
6. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции, герпеса.
7. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,G,ВИЧ- инфекции,герпеса.
8. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики (демонстрация).

ОСНАЩЕНИЕ

1.Учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,G, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
2.Учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
3.Учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики (демонстрация).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°С инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°С около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°С в течение 60 минут, прогревании при 60°С в течение 10 часов.

Механизм передачи инфекции — парентеральный. Заражение происходит естественным (половой, вертикальный, бытовой) и искусственным (парентеральным) путями. Вирус присутствует в крови и различных биологических жидкостях — слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, менструальной крови и др. Контагиозность (заразность) вируса гепатита В превышает контагиозность ВИЧ в 100 раз.

Наибольшее значение раньше повсеместно имел именно парентеральный путь — заражение при лечебно-диагностических манипуляциях, сопровождающихся нарушением целостности кожного или слизистого покрова через медицинский, стоматологический, маникюрный и прочий инструментарий, трансфузии крови и её препаратов.

Патогенез. Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.

Инкубационный период (время с момента заражения до появления симптомов) гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идет скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности. Некоторые исследователи полагают, что бессимптомное течение, безжелтушная форма и «желтушный» гепатит составляют равные по количеству пораженных лиц группы. То есть выявленные диагностированные случаи острого гепатита В составляют только одну треть всех случаев острого гепатита.

Вакцинация. Обязательная вакцинация. С недавнего времени вакцинация против гепатита В была включена в обязательный календарь прививок. Новорожденные наиболее чувствительны к вирусу гепатита В – в случае инфицирования в этом возрасте, риск приобретения хронической формы гепатита В составляет 100%. В то же время иммунитет, создаваемый вакциной в этот период жизни, наиболее стойкий. Рекомендовано прививать новорожденного еще в родильном доме, затем через 1 месяц после первой прививки, и через 6 месяцев после первой прививки (так называемая схема 0-1-6). При пропуске очередной инъекции следует помнить о допустимых интервалах - 0-1(4)-6(4-18) месяцев. Однако если были пропущены допустимые интервалы, необходимо продолжать вакцинацию по схеме, как если бы пропуска не было. Если вакцинация проведена по стандартной схеме, повторная вакцинация обычно не требуется, поскольку иммунитет сохраняется по меньшей мере в течение 15 лет. Для определения, насколько долго сохраняется иммунитет в течение жизни, необходимы дальнейшие исследования – ведь вакцинация начала применяться относительно недавно. Только после проведения всего курса вакцинации, достигается почти 100%-ый иммунитет. Около 5% общей популяции не отвечает на вакцинацию, в этих случаях следует

использовать другие виды вакцин против гепатита В.

Лабораторная диагностика ГВ - основана на выявлении специфических для ГВ антигенов и соответствующих антител в крови, а также вирусных нуклеиновых кислот, основными из которых являются:

HB sAg - анти-HB s
анти-HBc класса Ig M и IgG
HBe Ag - анти-HBe
ДНК ВГВ

Наиболее широко в диагностике ГВ используется определение HBsAg. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании (однако острая инфекция обычно подтверждается наличием высоких титров анти-HBc IgM). При остром ГВ поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистирование HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса. Элиминация HBsAg и появление антител к нему является непременным условием выздоровления. Серологическими маркерами репликации ВГВ являются - анти-HBc класса IgM, HBeAg, ДНК и ДНК-полимераза, которые обнаруживаются при остром ГВ с первых дней клинических проявлений и могут обнаруживаться при обострении хронического ГВ. Серологические маркеры репликации ВГВ определяют как в целях общей диагностики, так и для оценки эффективности применяемой терапии.

Вирус гепатита Д (HДV) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. HДV представляет собой сферическую частицу, в центре которой находится сферический антиген (НД-Ag), содержащий РНК. Наружная оболочка частицы образована поверхностным антигеном вируса гепатита В - HBs антигеном (HBsAg). HДV не может существовать без репликации HB- вируса, поэтому его называют вирусом - паразитом, или дефектным вирусом. Вирус гепатита В выполняет при этом хелперную функцию, то есть роль помощника для размножения HДV. Поэтому HДV - инфекция протекает всегда вместе с HBV- инфекцией. HДV располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. HДV- инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции HДV в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к HДV выделяются в различных регионах у 2-7 % больных, а при хронических гепатитах - у 9-50 % больных. На территории бывшего СССР среди “здоровых” носителей HBsAg наибольшая частота (10-20 %) обнаружения антител к HДV выявлена в Молдове, Казахстане, Средней Азии, Туве, то есть в районах, гиперэндемичных по ВГВ. В европейской части России частота выявления антител к HДV составляет 1,2-5,5 %.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим ВГД, вирусоносители, а также носители антиHДV, так как известно, что у лиц с антиHДV одновременно можно обнаружить РНК- HДV. Передача HДV происходит так же, как и при ВГВ (парентеральным, половым путем, от матери плоду). К дельта -инфекции восприимчивы лица, не болевшие ВГВ (тоесть не имеющие антиHBs), а также носители HB- вируса (здоровые носители HBsAg и больные хроническим ВГВ). Дельта- инфекция возникает как спорадически, так и в виде вспышек.

Патогенез, клиника. Инфекционный процесс, обусловленный HДV, проявляется прежде всего появлением НД-Ag в крови. Дельта -антигемия может быть кратковременной или продолжительной в зависимости от того, как происходило инфицирование и имеется ли интегрирование HB- вируса в геном гепатоцита. Различают острое, затяжное и хроническое течение дельта- инфекции. Характер ее течения лимитируется продолжительностью HBs-антигенемии: по мере ее истощения прекращается и синтез HДV, и завершается дельта-зависимый патологический процесс.

Дельта- инфекция развивается в виде коинфекции или суперинфекции. При коинфекции происходит одновременное заражение HBV + НДV у лиц, не болевших ранее HBV - инфекцией (не имеющих до инфицирования маркеров HBV - инфекции). В этом случае развивается острый ВГВ+ВГД- гепатит с появлением серологических маркеров сразу двух острых инфекций. При коиинфекции репликация HBV чаще всего ВГВ+ВГД - гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции НДV - инфекция наслаивается на текущую HBV- инфекцию у здоровых носителей HBsAg, у реконвалесцентов основного ВГВ, у больных хроническим ВГВ. При этом развивается клиника острого вирусного гепатита дельта, сопровождающегося появлением антител к дельта- антигену.

Лабораторная диагностика гепатита Д (ГД) Вирус гепатита Д (ВГД) – это дефектный вирус, содержащий одно-спиральную РНК, которому для репликации необходимо помощь вируса ГВ для синтеза оболочечных белков, состоящих из HBsAg, который используется для инкапсуляции генома ВГД. ВГД не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов животных, по своим свойствам ВГД наиболее близок к вироидам и сателлитным вирусам растений. Лабораторная диагностика осуществляется путем обнаружения серологических маркеров ВГД, включая наличие антигена, антител к нему и РНК ВГД. Обнаружение антигена ВГД и РНК ВГД в сыворотке крови или ткани печени свидетельствует о наличии активной ГД-инфекции, однако, следует отметить, что эти маркеры могут не обнаруживаться в сыворотке больных фульминантным ГД. Маркером активной репликации ВГД также является анти-ВГД класса IgM. Серологические маркеры инфекции ГД зависят от того, как был приобретен вирус – в виде коинфекции с ВГВ (у большинства больных заболевание имеет острое течение и заканчивается выздоровлением) или суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией (протекает тяжелее, чем коинфекция - в 10% развивается фульминантный гепатит). При суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией серологическая картина имеет следующие характерные особенности: – титр HBsAg снижается к моменту появления антигена ВГД в сыворотке; - антиген ВГД и РНК-ВГД продолжают определяться в сыворотке, так как обычно у большинства пациентов с суперинфекцией ГД (70-80%) развивается хроническая инфекция, в отличие от случаев коинфекции; - определяются высокие титры антител (анти-ВГД) как класса IgM, так и IgG, которые сохраняются неопределенное время. Серологические маркеры вируса ГД определяют методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа, а РНК-ВГД - методом полимеразной цепной реакции.

Гепатит С — антропонозное вирусное заболевание с парентеральным механизмом заражения, наиболее часто протекающее в виде посттрансфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и склонное к хронизации.

Гепатит С называют «ласковым убийцей» из-за способности маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний.

Парентеральный вирусный гепатит С вызывается РНК-содержащим вирусом с размером вириона 30-60 нм, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирусные частицы HCV имеют оболочку, содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам вируса гепатита С. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и анти-HCV антителами, имеют диаметр 60-70 нм. При электронно-микроскопическом изучении на поверхности вириона выявлены хорошо выраженные выступы высотой 6-8 нм.

Источником инфекции являются больные с активным гепатитом С и латентные больные — носители вируса. HCV-инфекция является инфекцией с парентеральным механизмом заражения — через инфицированную кровь и её компоненты. Инфицирование возможно при парентеральных манипуляциях, в том числе в медицинских учреждениях, включая оказание стоматологических услуг, через инъекционное оборудование, при акупунктуре, пирсинге, нанесении татуировок, при оказании ряда услуг в парикмахерских, однако при половых контактах вероятность заболеть гепатитом С гораздо меньше, чем гепатитом В, и сводится к минимальным показателям.

Лабораторная диагностика гепатита С (ГС). Лабораторная диагностика ГС была решена при помощи современных методов молекулярной биологии, учитывая, что при ГС вирус находится в крайне низкой концентрации и его антигены не доступны выявлению с помощью современных методов индикации, усилия исследователей сосредоточены на выявлении антител к различным антигенным компонентам вируса, обнаружение которых может служить индикатором наличия вируса. В качестве антигенов использовали белки, кодированные структурной и неструктурной зоной РНК-ВГС, полученные при помощи рекомбинантной технологиии или синтеза (полипептиды, используемые в современных иммунологических методах – С22-3; С33с, С100-3, С200, NS5, S-1-1). Лабораторная диагностика ГС основывается на обнаружении серологических маркерв ВГС: антител к вирусу ГС (анти-ВГС, анти-ВГС класса IgM, IgG) методом ИФА и РНК-ВГС методом ПЦР. К настоящему времени разработаны 4 поколения тест-систем для выявления анти-ВГС в иммуноферментном методе, но ИФА первого поколения сейчас не используется из-за низкой чувствительности. РНК-ВГС является показателем активной репликации ВГС и самым ранним маркером инфекции, и может быть обнаружена методом полимеразной цепной реакции уже через 1- 2 недели после инфицирования, незадолго до повышения уровня сывороточных трансаминаз. Анти-ВГС обнаруживаются к 5-6 неделе после начала гепатита в 80% случаев и к 12 неделе у 90% лиц методом иммуноферментного анализа. При определении анти-ВГС в некоторых случаях регистрируется ложноположительная реакция. Для разграничения ложноположительных образцов от образцов действительно содержащих антитела к ВГС, разработаны дополнительные тесты – рекомбинантный иммуноблотинг, определение спектра белков анти-ВГС.

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека, вызывающий заболевание — ВИЧ-инфекцию, последняя стадия которой известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) — в отличие от врождённого иммунодефицита.

Распространение ВИЧ-инфекции связано, главным образом, с незащищенными половыми контактами, использованием зараженных вирусом шприцев, игл и других медицинских и парамедицинских инструментов, передачей вируса от инфицированной матери ребенку во время родов или при грудном вскармливании. В развитых странах обязательная проверка донорской крови в значительной степени сократила возможность передачи вируса при её использовании.

ВИЧ заражает прежде всего клетки иммунной системы (CD4+ Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки), а также некоторые другие типы клеток. Инфицированные ВИЧ CD4+ Т-лимфоциты постепенно гибнут.

Вирус иммунодефицита человека относят к семейству ретровирусов (Retroviridae), роду лентивирусов (Lentivirus). Название Lentivirus происходит от латинского слова lente — медленный. Такое название отражает одну из особенностей вирусов этой группы, а именно — медленную и неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме. Для лентивирусов также характерен длительный инкубационный период.

Диагностика. Течение ВИЧ-инфекции характеризуется длительным отсутствием существенных симптомов болезни[81]. Диагноз ВИЧ-инфекции ставится на основании лабораторных данных: при выявлении в крови антител к ВИЧ. Антитела к ВИЧ в период острой фазы, как правило, не обнаруживают. В первые 3 мес. после заражения антитела к ВИЧ выявляются у 96-97 % пациентов, через 6 мес. — у остальных 2-3 %, а в более поздние сроки — только у 0,5-1 % (источник Centers for Disease Control and Prevention USA, 2009г). В стадии СПИД регистрируют существенное снижение содержания антител в крови. Первые недели после инфицирования представляют собой «период серонегативного окна», когда антитела к ВИЧ не выявляются. Поэтому отрицательный результат тестирования на ВИЧ в этот период не означает, что человек не инфицирован ВИЧ и не может заразить других.

Для диагностики поражения слизистой оболочки рта у ВИЧ-инфицированных больных принята рабочая классификация, утверждённая в Лондоне, в сентябре 1992 года. Все поражения разделены на 3 группы:

1 группа — поражения, чётко связанные с ВИЧ-инфекцией. В эту группу включены следующие нозологические формы:

кандидозы (эритематозный, псевдомембранозный, гиперпластический, атрофический);

волосистая лейкоплакия;

маргинальный гингивит;

язвенно-некротический гингивит;

деструктивный пародонтит;

саркома Капоши;

неходжкинская лимфома.

2 группа — поражения, менее чётко связанные с ВИЧ-инфекцией:

бактериальные инфекции;

болезни слюнных желёз;

вирусные инфекции;

тромбоцитопеническая пурпура.

3 группа — поражения, которые могут быть при ВИЧ-инфекции, но не связанные с нею.

Герпес (греч. ἕρπης — ползучая, распространяющаяся кожная болезнь) — вирусное заболевание с характерным высыпанием сгруппированных пузырьков на коже и слизистых оболочках.

Простой герпес (Herpes simplex) — группа скученных пузырьков с прозрачным содержимым на воспалённом основании. Герпесу предшествует зуд, жжение кожи, иногда озноб, недомогание.

Опоясывающий лишай (Herpes zoster) — характеризуется болью по ходу нерва, головной болью. Через несколько дней на участке кожи по ходу нерва появляются высыпания в виде сгруппированных пузырьков сначала с прозрачным, а позже гнойным кровянистым содержимым. Увеличиваются лимфатические узлы, повышается температура тела, нарушается общее состояние. Невралгические боли могут держаться до нескольких месяцев.

Патогенез. Вирус герпеса передается непосредственным контактным путем, а также посредством предметов обихода. Возможна также передача инфекции воздушно-капельным путем. Герпес проникает через слизистые оболочки полости рта, верхних дыхательных путей и половых органов. Преодолев тканевые барьеры, вирус попадает в кровь и лимфу. Затем попадает в различные внутренние органы.

Вирус проникает в чувствительные нервные окончания и встраивается в генетический аппарат нервных клеток. После этого удалить вирус из организма невозможно, он останется с человеком на всю жизнь. Иммунная система реагирует на проникновение герпеса выработкой специфических антител, блокирующих циркулирующие в крови вирусные частицы. Характерно пробуждение инфекции в холодное время года, при простудных заболеваниях, при гиповитаминозе. Размножение герпеса в клетках эпителия кожи и слизистых оболочек приводит к развитию дистрофии и гибели клеток.

Согласно исследованиям учёных Колумбийского университета, герпес является стимулирующим фактором для развития болезни Альцгеймера. Позднее эти данные были независимо подтверждены исследователями из Манчестерского университета. Ранее та же группа исследователей под руководством Рут Ицхаки доказала, что вирус простого герпеса обнаруживается в мозге почти 70 % пациентов с болезнью Альцгеймера. Кроме того, они подтвердили, что при инфицировании вирусом культуры клеток мозга происходит значительное увеличение уровня бета-амилоида, из которого и формируются бляшки. В ходе последнего исследования ученые смогли выяснить, что 90 % бляшек в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера содержат ДНК простого герпеса — ВПГ-1.

Для диагностики герпетической инфекции используются все лабораторные реакции — от цитологических исследований до молекулярно-биологических методов.

Материалом для выделения вируса с целью диагностики герпетической инфекции может служить содержимое герпетических пузырьков, соскобы с роговой оболочки и жидкости из передней камеры глаза, кровь, слюна, моча, спинномозговая жидкость фекалии

кусочки ткани мозга, печени, почек, селезенки, легких лимфатические узлы, взятые на био- или аутопсии.

Инфекционный материал можно длительно хранить при -70°С, тогда как при температуре -20°С он быстро инактивируется. Вируссодержащие ткани могут быть сохранены более 6 месяцев при 4°С, если они находятся в 50% растворе глицерина.

Существует целый ряд специальных методов для выявления вирусных антигенов, специфических антител и вирусиндуцированных морфологически измененных клеток.

Наиболее доступным и технически несложным является цитологический метод, позволяющий изучить морфологические изменения в клетках, инфицированных вирусом простого герпеса. Эффективность метода зависит от получения достаточного количества клеток для исследования. Наличие внутриядерных включений, характерных для репродукции вируса герпеса, служит подтверждением диагноза. Следует помнить, что внутриядерные включения обнаруживаются только после немедленной фиксации мазков соскоба в абсолютном спирте с последующей окраской по Романовскому-Гимзе. Морфологические изменения, индуцируемые вирусом простого герпеса, можно также обнаружить в срезах тканей инфицированных органов. Характерным для герпетической инфекции является: наличие многоядерных клеток, внутриядерных включений и в некоторых случаях геморрагии. При генерализованной форме заболевания многоядерные клетки с эозинофильными включениями находят в зонах некротизированных тканей различных органов (мозг, печень, почки, надпочечники, эпителий бронхов и трахеи).

Метод иммунофлуоресценции — является методом экспресс-диагностики герпетической инфекции и позволяет в течение 1-2 часов определять наличие герпесвирусных антигенов в клиническом материале (соскоб с кожи и слизистых оболочек, срезы биопсированных органов). Идентификация антигенов вируса простого герпеса может быть выполнена в различных модификациях метода иммунофлуоресценции — прямой, непрямой, с применением меченного комплемента.

Из серологических методов идентификации наиболее часто используют реакцию связывания комплемента (РСК), особенно в микромодификации ее постановки. Микрометоды используют и для выявления вируса простого герпеса в реакциях нейтрализации, пассивной гемаглютинации и в других серологических тестах. Чувствительность перечисленных методик различна.

В настоящее время одним из наиболее чувствительных методов диагностики герпетической инфекции является метод иммуноферментного анализа (ИФА), позволяющий обнаруживать, в зависимости от вида биологического материала, как вирусспецифические антигены, так и вирусспецифические антитела класса IgM, IgG.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний -------- 30 мин.
2. Самостоятельная работа --------- 30 мин.
3. Проверка протоколов --------- 10 мин.
4. Уборка рабочего места --------- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом --------- 10мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №17

<u>СДАЧА МОДУЛЯ ПО ТЕМЕ</u>: «ВИРУСЫ -ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦ

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ДЛЯ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

Владикавказ

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Сущность научного открытия Д.И.Ивановского:
А) создание первого микроскопа;
Б) открытие вирусов;
В) открытие явления фагоцитоза;
Г) получение антирабической вакцины.

2. Основные морфологические разновидности бактерий:
А) Кокки;
Б) Палочки;
В) Извитые;
Г) Ветвящиеся.

3. Прокариоты, не имеющие клеточной стенки и не синтезирующие предшественники пептидогликана:
А) Стафилококки;
Б) Нейссерии;
В) Стрептококки;
Г) Микоплазмы.

4. К спорообразующим бактериям относятся:
А) Стрептококки;
Б) Клостридии;
В) Нейссерии;
Г) Сальмонеллы.

5. Какими свойствами обладают спирохеты?
А) имеют тонкую клеточную стенку;
Б) грамотрицательны;
В) Тонкие спирально изогнутые клетки;
Г) Имеют цитоплазматический илиндр.

6. Хламидии:
А) Грамотрицательные;
Б) Образуют споры;
В) Прокариоты;
Г) Облигатные внутриклеточные паразиты.

7. Свойства ЛПС:
А) Является эндотоксином;
Б) Термолабилен;
В) Является О-антигеном;
Г) Содержит пептидогликан.

8. Наружная мембрана грамотрицательных бактерий имеет:
А) ЛПС;
Б) Порины;
В) Липид А;
Г) Пептидогликан.

9. Грамположительные бактерии:
А) Эшерихии;
Б) Стафилококки;
В) Вибрионы;
Г) Стрептококки.

10. Прочный слизистый слой, располагающийся снаружи клеточной стенки бактерий:

А) Чехол;
Б) Мукоид;
В) Наружная мембрана;
Г) Капсула.

11. Неспорообразующие кислотоустойчивые бактерии:

А) Клостридии;
Б) Эшерихии;
В) Бациллы;
Г) Микобактерии.

12. Хромосомы бактерий:

А) Связаны с цитоплазматической мембраной;
Б) Содержат гистоны;
В) Имеют форму кольца;
Г) Связаны с ЛПС.

13. Темнопольная микроскопия применяется для изучения:

А) Кишечной палочки;
Б) Риккетсий;
В) Стафилококка;
Г) Бледной трепонемы.

14. Назовите метод окраски, применяемый для возбудителей туберкулеза:

А) Циль-Нильсена;
Б) Ожешко;
В) Бурри-Гинса;
Г) Нейссера.

15. Методы определения наличия жгутиков бактерий :

А) Протравливание и импрегнация солями серебра или ртути;
Б) Окрашивание по Нейссеру;
В) Окрашивание по Леффлеру;
Г) По направленному характеру движений у бактерий в препаратах "раздавленная" и " висячая" капля.

16. Что такое трансформация?

А) Передача генетической информации при контакте бактериальных клеток разной «половой» направленности;
Б) Восстановление поврежденной ДНК;
В) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

17. Признаки грибов:

А) Основной компонент клеточной стенки – хитин;
Б) Имеют хлорофилл;
В) Содержат эргостеролы в цитоплазматической мембране;
Г) Имеет ядро с ядерной оболочкой.

18. Простейшие, имеющие апикальный комплекс:

А) Балантидий;
Б) Малярийный плазмодий;
В) Трихомонада;
Г) Токсоплазма.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся: а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты.
Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, б, в;
Б) б, в, г, д;

В) в, г, д;
Г) а, в, г, д;
Д) б, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Органы движения у бактерий:

2. Бактерии, покрытые жгутиками со всех сторон клетки:

А) Пили;
Б) Жгутики;
В) Псевдоподии;
Г) Трихомонады;
Д) Перитрихи.

21.

1**. Микроорганизмы, не имеющие клеточной стенки:**

2. Адгезия бактерий к эукариотическим клеткам:

А) Амфитрихи;
Б) Спирохеты;
В) Микоплазмы;
Г) Порины;
Д) Пили;
Е) жгутики.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Ученые-основоположники физиологического периода развития микробиологии:

А) Левенгук;
Б) Пастер;
В) Мечников;
Г) Кох.

2. Структурные особенности прокариотов:

А) Константа седиментации рибосом 70S;
Б) Имеется нуклеоид;
В) Отсутствует аппарат Гольджи;
Г) Отсутствует ядерная мембрана.

3. Не имеют полноценной клеточной стенки:

А) Хламидии;
Б) L-формы;
В) Риккетсии;
Г) Микоплазмы.

4. Какую морфологию имеют сарцины?

А) Палочковидную;
Б) Кокковидную;
В) Извитую;
Г) Нитевидную.

5. К спирохетам относятся:

А) Трепонемы;
Б) Боррелии;
В) Лептоспиры;
Г) Микоплазмы.

6. Споры актиномицетов участвуют в:

А) Размножении;

Б) Защите от неблагоприятных внешних воздействий;

В) Расселении микроба или колонизации субстрата;

Г) Передаче генов.

7. Риккетсии:

А) Облигатные внутриклеточные паразиты;

Б) Прокариоты;

В) Грамотрицательны;

Г) Окрашиваются по методу Здродовского.

8. Функции клеточной стенки бактерий:

А) Участие в процессе деления клетки;

Б) Участие в обмене веществ;

В) Защита от действия внешних вредных факторов;

Г) Поддержание постоянной формы.

9. Компоненты ЛПС бактерий:

А) Липид А;

Б) Пептидогликан;

В) Полисахаридная боковая цепь;

Г) Белок-порин.

10. Микрокапсула:

А) Образуется у большинства бактерий;

Б) Хорошо видна в световом микроскопе;

В) Толщина менее 0,2 мкм;

Г) Придает бактериям кислотоустойчивость.

11. Устойчивость неспорообразующих бактерий к кислотам, щелочам и спиртам обусловлена высоким содержанием в клеточной стенке:

А) Пептидогликана;

Б) Тейхоевых кислот;

В) Пептидных мостиков;

Г) Восков и липидов.

12. Особенности зерен волютина?

А) Относятся к цитоплазматическим включениям;

Б) Окрашиваются по Нейссеру;

В) Отличаются метохромазией;

Г) Содержат полифосфаты.

13. Тинкториальные свойства бактерий характеризуют:

А) Устойчивость во внешней среде

Б) Устойчивость к действию физических факторов

В) Чувствительность к бактериофагам

Г) Отношение к определенному методу окрашивания

14. Методы окрашивания риккетсий:

А) Окраска по Романовскому-Гимзе;

Б) Окраска по Нейссеру;

В) Окраска по Здродовскому;

Г) Окраска по Ауеске.

15. Для обнаружения спор у бактерий используют окраску:

А) По Нейссеру;

Б) По Романовскому -Гимзе;

В) По БурриоГинсу;

Г) По Ожешки.

16.Что такое конъюгация?

А) Исправление поврежденных участков ДНК;

Б) Передача генетической информации при помощи бактериофага;
В) Наследственное скачкообразное изменение признака;
Г) Передача генетической информации при скрещивании бактерий через половые ворсинки.

17. Признаки грибов:

А) Отсутствует хлорофилл;
Б) Имеют ригидную клеточную стенку;
В) Содержат эргостеролы в цитоплазматической мембране;
Г) Эукариоты.

18. Простейшие:

А) Эукариоты;
Б) Относятся к царству животных;
В) Имеют клеточное строение;
Г) Относятся к прокариотам.

19. Световая микроскопия включает в себя следующие разновидности: а) фазово-контрастную микроскопию; б) электронную микроскопию; в) темнопольную микроскопию; г) микроскопию в затемненном поле; д) иммерсионную микроскопию.

Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, в, г, д;
Б) а, б, г, д;
В) б, в, г, д;
Г) б, в, г;
Д) в, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Функции пилей (ворсинок, фимбрий):
2. Нуклеоид бактерий:

А) Адгезия бактерий к субстрату;
Б) Являются антигенами;
В) Служат рецептором для бактериофагов;
Г) Содержит 2-3 ядрышка;
Д) Нить ДНК замкнута в кольцо;
Е) Имеет ядерную оболочку.

21.

1. Извитые формы бактерий:
2. Спорообразующие бактерий:

А) Клостридии;
Б) Бациллы;
В) Актиномицеты;
Г) Спириллы;
Д) Микоплазмы;
Е) Спирохеты.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. С именем какого ученого связано открытие сущности брожения [1857], микробной обусловленности и заразности инфекционных болезней [1881], методов изготовления вакцин и способов профилактики

куриной холеры, сибирской язвы и бешенства [1882-1885] ?

А) Левенгук;
Б) Мечников;
В) Кох;
Г) Пастер.

2. Определите понятие “таксон”:

А) Генетически однородная чистая культура микробов;
Б) Культура микробов, происходящая из одной клетки;
В) Культура определенного вида микробов, выделенная из окружающей среды, патологических материалов человека и животных или полученная из музея;
Г) Группа микроорганизмов, объединенных в систематическую категорию на основании общности свойств и признаков.

3. Эукариоты:

А) Простейшие;
Б) Эубактерии;
В) Грибы;
Г) Прионы.

4. Бактерии, у которых отсутствует полноценная клеточная стенка:

А) Риккетсии;
Б) Микоплазмы;
В) Хламидии;
Г) Спирохеты.

5. Извитые бактерии:

А) Актиномицеты;
Б) Спириллы;
В) Микобактерии;
Г) Спирохеты.

6. Актиномицеты:

А) Грамположительные микробы;
Б) Клетки имеют вид разветвленных нитей;
В) Образуют экзоспоры;
Г) Прокариоты.

7. Микроорганизмы, частично или полностью утратившие клеточную стенку под действием факторов внешней среды:

А) Сферопласты;
Б) Протопласты;
В) L-формы;
Г) Микоплазмы.

8. Функции ЛПС:

А) Антигенная;
Б) Ферментативная;
В) Токсическая (эндотоксин);
Г) Наследственная.

9. Микробы, у которых ригидность клеточной стенки обусловливает пептидогликан:

А) Грамотрицательные бактерии;
Б) Вирусы;
В) Грамположительные бактерии;
Г) Грибы.

10. Кислотоустойчивые микроорганизмы:

А) Микобактерии;
Б) Стрептококки;

В) Вибрионы;
Г) Стафилококки.

11. Функции пилей (ворсинок, фимбрий):
А) Адгезия бактерий к субстрату;
Б) Участие в передаче генов;
В) Служат рецептором для бактериофагов;
Г) Являются антигенами.

12. Образование эндоспор у бактерий стимулируют:
А) Недостаток кислорода;
Б) Изменение температуры окружающей среды;
В) Дефицит питательных веществ;
Г) Попадание в организм человека или животного.

13. Признаки грамположительных бактерий:
А) В клеточной стенке есть тейхоевые кислоты;
Б) Могут образовывать споры;
В) Основной компонент клеточной стенки – пептидогликан;
Г) Отдельные представители кислотоустойчивы.

14. Какие особенности характерны для мезосом у бактерий?
А) образуются в результате инвагинации цитоплазматической мембраны в цитоплазму;
Б) Выполняет функции пищеварительной вакуоли;
В) Синтезируют белок;
Г) Выявляют по Циля-Нильсена.

15. Для обнаружения капсул бактерий в чистой культуре используют окраски:
А) Простую;
Б) По Нейссеру;
В) По Грамму;
Г) По Бурри-Гинсу.

16. Что такое трансформация?
А) Передача генетической информации при контакте бактериальных клеток разной «половой» направленности;
Б) Восстановление поврежденной ДНК;
В) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

17. Высшие грибы:
А) Имеют осевую нить;
Б) Имеют септированный мицелий;
В) Образуют вегетативные эндоспоры;
Г) Образуют экзоспоры (конидии).

18. Дайте характеристику простейших:
А) Имеют клеточное строение;
Б) Относятся к эукариотам;
В)Снаружи окружены пелликулой;
Г) Относятся к царству животных.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся:а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты.
Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:
А) а, б, в;
Б) б, в, г, д;
В) а, в, г, д;

Г) а, б, г, д;

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Для обнаружения кислотоустойчивых бактерий применяют?

2. Для обнаружения зерен волютина бактерий?

А) Окраска по Бури-Гинсу;
Б) Окраска по Цилю-Нильсену;
В) Окраска по Романовскому-Гимзе;
Г) Окраска разведенным карболовым фуксином;
Д) Окраска по Нейссеру.

21.

1. Функцию синтеза белка выполняет:

2. хромосомные генетические структуры у бактерий:

А) Мезосомы;
Б) Рибосомы;
В) Плазмиды;
Г) Транспозоны;
Д) Нуклеоид.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Кто является одним из основоположников иммунологического этапа развития микробиологии и создателем фагоцитарной теории иммунитета?

А) Безредко;
Б) Мечников;
В) Кох;
Г) Пастер.

2. Какие микробы относятся к эукариотам?

А) Простейшие;
Б) Микоплазмы;
В) Грибы;
Г) Хламидии.

3. Структурные особенности прокариотов:

А) Константа седиментации рибосом 70S;
Б) Имеется нуклеоид;
В) Отсутствует аппарат Гольджи;
Г) Отсутствует ядерная мембрана.

4. Что такое стрептобациллы?

А) Кокки, образующие цепочку;
Б) Палочки, образующие цепочку;
В) Извитые формы;
Г) Спорообразующие палочки, располагающие цепочкой.

5. Ветвящиеся формы бактерий:

А) Актиномицеты;
Б) Спириллы;
В) Микоплазмы;
Г) Спирохеты.

6. Микроорганизмы, у которых отсутствие клеточной стенки всегда детерминировано генетически:

А) Протопласты
Б) Сферопласты
В) Хламидии
Г) Микоплазмы

7. Какие свойства характерны для хламидий?

А) Грамотрицательны;
Б) Прокариоты;
В) Облигатные внутриклеточные паразиты;
Г) Имеют извитую форму.

8. Липополисахарид бактериальной клетки расположен в:

А) Цитоплазматической мембране;
Б) Наружной мембране грамположительных бактерий;
В) Мезосомах;
Г) Наружной мембране грамотрицательных бактерий.

9. В состав пептидогликана входят:

А) Тейхоевые кислоты
Б) N-ацетилглюкозамин и М-ацетилмурамовая кислота
В) Липополисахарид (ЛПС)
Г) Молекулы гликана.

10. Какие структуры обязательны для L–формы бактерий?

А) капсула;
Б) ЦПМ;
В) Цитоплазма;
Г) Нуклеоид;
Д) Клеточная стенка.

11. Неспорообразующие бактерии, наиболее устойчивые к действию кислот, щелочей и спирта:

А) Микобактерии;
Б) Клостридии;
В) Эшерихии;
Г) Бациллы.

12. Внутриклеточные включения бактерий:

А) Зерна гликогена;
Б) Митохондрии;
В) Зерна волютина;
Г) Рибосомы.

13. Сложные дифференциально-диагностические методы окраски:

А) Окраска по Цилю-Нельсену;
Б) Окраска синим Леффлера;
В) Окраска по Грамму;
Г) Окраска разведенным карболовым фуксином.

14. При микроскопии исследуемого материала риккетсии обычно обнаруживают:

А) В цитоплазматической мембране;
Б) В мезосомах;
В) Внеклеточно;
Г) В цитоплазме клеток.

15. Для обнаружения зерен волютина у бактерий используют окраску:

А) По Нейссеру;
Б) По Романовскому -Гимзе;
В) По Буррио Гинсу;
Г) По Ожешки.

16. Что такое мутагены?

А) Гены, обеспечивающие мутацию;
Б) Факторы, вызывающие мутацию;
В) Факторы, восстанавливающие ДНК;
Г) Фаторы, передающие генетическую информацию.

17. Мицелий грибов – это:

А) Клетка без цитоплазматической мембраны;
Б) Совокупность гиф;
В) Совокупность хламидоспор;
Г) Многоядерная структура.

18. Простейшие:

А) Эукариоты;
Б) Содержат оформленное ядро с ядерной мембраной;
В) Устроены сложнее, чем клетки бактерий;
Г) Прокариоты.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся: а)хламидии; б) вирусы; в) плесневые грибы; г) спирохеты; д) актиномицеты; е) микоплазмы.
Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, б, в;
Б) а, г, д, е;
В) в, г, д;
Г) а, в, г, д;
Д) б, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Трансдукция:
2. Конъюгация:

А) Исправление поврежденных участков ДНК;
Б) Передача генетической информации при помощи бактериофага;
В) Наследственное скачкообразное изменение признака;
Г) Передача генетической информации при скрещивании бактерийй через половые ворсинки.
Д) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

21.

1. Актиномицеты:
2. Хламидии:

А) Грамположительные микробы;
Б) Грамотрицательные микробы;
В) Клетки имеют вид разветвленных нитей;
Г) Образуют экзоспоры;
Д) Облигатные внутриклеточные паразиты.
Е) Эукариоты.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Сущность научного открытия Д.И.Ивановского:

А) создание первого микроскопа;
Б) открытие вирусов;
В) открытие явления фагоцитоза;
Г) получение антирабической вакцины.

2. Основные морфологические разновидности бактерий:

А) Кокки;
Б) Палочки;
В) Извитые;
Г) Ветвящиеся.

3. Прокариоты, не имеющие клеточной стенки и не синтезирующие предшественники пептидогликана:

А) Стафилококки;
Б) Нейссерии;
В) Стрептококки;
Г) Микоплазмы.

4. К спорообразующим бактериям относятся:

А) Стрептококки;
Б) Клостридии;
В) Нейссерии;
Г) Сальмонеллы.

5. Какими свойствами обладают спирохеты?

А) имеют тонкую клеточную стенку;
Б) грамотрицательны;
В) Тонкие спирально изогнутые клетки;
Г) Имеют цитоплазматический илиндр.

6. Хламидии:

А) Грамотрицательные;
Б) Образуют споры;
В) Прокариоты;
Г) Облигатные внутриклеточные паразиты.

7. Свойства ЛПС:

А) Является эндотоксином;
Б) Термолабилен;
В) Является О-антигеном;
Г) Содержит пептидогликан.

8. Наружная мембрана грамотрицательных бактерий имеет:

А) ЛПС;
Б) Порины;
В) Липид А;
Г) Пептидогликан.

9. Грамположительные бактерии:

А) Эшерихии;
Б) Стафилококки;
В) Вибрионы;
Г) Стрептококки.

10. Прочный слизистый слой, располагающийся снаружи клеточной стенки бактерий:

А) Чехол;
Б) Мукоид;

В) Наружная мембрана;
Г) Капсула.

11. Неспорообразующие кислотоустойчивые бактерии:

А) Клостридии;
Б) Эшерихии;
В) Бациллы;
Г) Микобактерии.

12. Хромосомы бактерий:

А) Связаны с цитоплазматической мембраной;
Б) Содержат гистоны;
В) Имеют форму кольца;
Г) Связаны с ЛПС.

13. Темнопольная микроскопия применяется для изучения:

А) Кишечной палочки;
Б) Риккетсий;
В) Стафилококка;
Г) Бледной трепонемы.

14. Назовите метод окраски, применяемый для возбудителей туберкулеза:

А) Циль-Нильсена;
Б) Ожешко;
В) Бурри-Гинса;
Г) Нейссера.

15. Методы определения наличия жгутиков бактерий :

А) Протравливание и импрегнация солями серебра или ртути;
Б) Окрашивание по Нейссеру;
В) Окрашивание по Леффлеру;
Г) По направленному характеру движений у бактерий в препаратах "раздавленная" и " висячая" капля.

16. Что такое трансформация?

А) Передача генетической информации при контакте бактериальных клеток разной «половой» направленности;
Б) Восстановление поврежденной ДНК;
В) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

17. Признаки грибов:

А) Основной компонент клеточной стенки – хитин;
Б) Имеют хлорофилл;
В) Содержат эргостеролы в цитоплазматической мембране;
Г) Имеет ядро с ядерной оболочкой.

18. Простейшие, имеющие апикальный комплекс:

А) Балантидий;
Б) Малярийный плазмодий;
В) Трихомонада;
Г) Токсоплазма.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся: а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты.
Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, б, в;
Б) б, в, г, д;
В) в, г, д;
Г) а, в, г, д;

Д) б, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Органы движения у бактерий:

2. Бактерии, покрытые жгутиками со всех сторон клетки:

А) Пили;
Б) Жгутики;
В) Псевдоподии;
Г) Трихомонады;
Д) Перитрихи.

21.

1**. Микроорганизмы, не имеющие клеточной стенки:**

2. Адгезия бактерий к эукариотическим клеткам:

А) Амфитрихи;
Б) Спирохеты;
В) Микоплазмы;
Г) Порины;
Д) Пили;
Е) жгутики.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Ученые-основоположники физиологического периода развития микробиологии:

А) Левенгук;
Б) Пастер;
В) Мечников;
Г) Кох.

2. Структурные особенности прокариотов:

А) Константа седиментации рибосом 70S;
Б) Имеется нуклеоид;
В) Отсутствует аппарат Гольджи;
Г) Отсутствует ядерная мембрана.

3. Не имеют полноценной клеточной стенки:

А) Хламидии;
Б) L-формы;
В) Риккетсии;
Г) Микоплазмы.

4. Какую морфологию имеют сарцины?

А) Палочковидную;
Б) Кокковидную;
В) Извитую;
Г) Нитевидную.

5. К спирохетам относятся:

А) Трепонемы;
Б) Боррелии;
В) Лептоспиры;
Г) Микоплазмы.

6. Споры актиномицетов участвуют в:

А) Размножении;
Б) Защите от неблагоприятных внешних воздействий;

В) Расселении микроба или колонизации субстрата;
Г) Передаче генов.

7. Риккетсии:

А) Облигатные внутриклеточные паразиты;
Б) Прокариоты;
В) Грамотрицательны;
Г) Окрашиваются по методу Здродовского.

8. Функции клеточной стенки бактерий:

А) Участие в процессе деления клетки;
Б) Участие в обмене веществ;
В) Защита от действия внешних вредных факторов;
Г) Поддержание постоянной формы.

9. Компоненты ЛПС бактерий:

А) Липид А;
Б) Пептидогликан;
В) Полисахаридная боковая цепь;
Г) Белок-порин.

10. Микрокапсула:

А) Образуется у большинства бактерий;
Б) Хорошо видна в световом микроскопе;
В) Толщина менее 0,2 мкм;
Г) Придает бактериям кислотоустойчивость.

11. Устойчивость неспорообразующих бактерий к кислотам, щелочам и спиртам обусловлена высоким содержанием в клеточной стенке:

А) Пептидогликана;
Б) Тейхоевых кислот;
В) Пептидных мостиков;
Г) Восков и липидов.

12. Особенности зерен волютина?

А) Относятся к цитоплазматическим включениям;
Б) Окрашиваются по Нейссеру;
В) Отличаются метохромазией;
Г) Содержат полифосфаты.

13. Тинкториальные свойства бактерий характеризуют:

А) Устойчивость во внешней среде
Б) Устойчивость к действию физических факторов
В) Чувствительность к бактериофагам
Г) Отношение к определенному методу окрашивания

14. Методы окрашивания риккетсий:

А) Окраска по Романовскому-Гимзе;
Б) Окраска по Нейссеру;
В) Окраска по Здродовскому;
Г) Окраска по Ауеске.

15. Для обнаружения спор у бактерий используют окраску:

А) По Нейссеру;
Б) По Романовскому -Гимзе;
В) По БурриоГинсу;
Г) По Ожешки.

16.Что такое конъюгация?

А) Исправление поврежденных участков ДНК;
Б) Передача генетической информации при помощи бактериофага;
В) Наследственное скачкообразное изменение признака;
Г) Передача генетической информации при скрещивании бактерийй

через половые ворсинки.

17. Признаки грибов:

А) Отсутствует хлорофилл;
Б) Имеют ригидную клеточную стенку;
В) Содержат эргостеролы в цитоплазматической мембране;
Г) Эукариоты.

18. Простейшие:

А) Эукариоты;
Б) Относятся к царству животных;
В) Имеют клеточное строение;
Г) Относятся к прокариотам.

19. Световая микроскопия включает в себя следующие разновидности: а) фазово-контрастную микроскопию; б) электронную микроскопию; в) темнопольную микроскопию; г) микроскопию в затемненном поле; д) иммерсионную микроскопию.

Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, в, г, д;
Б) а, б, г, д;
В) б, в, г, д;
Г) б, в, г;
Д) в, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Функции пилей (ворсинок, фимбрий):
2. Нуклеоид бактерий:

А) Адгезия бактерий к субстрату;
Б) Являются антигенами;
В) Служат рецептором для бактериофагов;
Г) Содержит 2-3 ядрышка;
Д) Нить ДНК замкнута в кольцо;
Е) Имеет ядерную оболочку.

21.

1. Извитые формы бактерий:
2. Спорообразующие бактерий:

А) Клостридии;
Б) Бациллы;
В) Актиномицеты;
Г) Спириллы;
Д) Микоплазмы;
Е) Спирохеты.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. С именем какого ученого связано открытие сущности брожения [1857], микробной обусловленности и заразности инфекционных болезней [1881], методов изготовления вакцин и способов профилактики куриной холеры, сибирской язвы и бешенства [1882-1885] ?

А) Левенгук;

Б) Мечников;
В) Кох;
Г) Пастер.

2. Определите понятие “таксон”:

А) Генетически однородная чистая культура микробов;
Б) Культура микробов, происходящая из одной клетки;
В) Культура определенного вида микробов, выделенная из окружающей среды, патологических материалов человека и животных или полученная из музея;
Г) Группа микроорганизмов, объединенных в систематическую категорию на основании общности свойств и признаков.

3. Эукариоты:

А) Простейшие;
Б) Эубактерии;
В) Грибы;
Г) Прионы.

4. Бактерии, у которых отсутствует полноценная клеточная стенка:

А) Риккетсии;
Б) Микоплазмы;
В) Хламидии;
Г) Спирохеты.

5. Извитые бактерии:

А) Актиномицеты;
Б) Спириллы;
В) Микобактерии;
Г) Спирохеты.

6. Актиномицеты:

А) Грамположительные микробы;
Б) Клетки имеют вид разветвленных нитей;
В) Образуют экзоспоры;
Г) Прокариоты.

7. Микроорганизмы, частично или полностью утратившие клеточную стенку под действием факторов внешней среды:

А) Сферопласты;
Б) Протопласты;
В) L-формы;
Г) Микоплазмы.

8. Функции ЛПС:

А) Антигенная;
Б) Ферментативная;
В) Токсическая (эндотоксин);
Г) Наследственная.

9. Микробы, у которых ригидность клеточной стенки обусловливает пептидогликан:

А) Грамотрицательные бактерии;
Б) Вирусы;
В) Грамположительные бактерии;
Г) Грибы.

10. Кислотоустойчивые микроорганизмы:

А) Микобактерии;
Б) Стрептококки;
В) Вибрионы;
Г) Стафилококки.

11. Функции пилей (ворсинок, фимбрий):

А) Адгезия бактерий к субстрату;
Б) Участие в передаче генов;
В) Служат рецептором для бактериофагов;
Г) Являются антигенами.

12. Образование эндоспор у бактерий стимулируют:

А) Недостаток кислорода;
Б) Изменение температуры окружающей среды;
В) Дефицит питательных веществ;
Г) Попадание в организм человека или животного.

13. Признаки грамположительных бактерий:

А) В клеточной стенке есть тейхоевые кислоты;
Б) Могут образовывать споры;
В) Основной компонент клеточной стенки – пептидогликан;
Г) Отдельные представители кислотоустойчивы.

14. Какие особенности характерны для мезосом у бактерий?

А) образуются в результате инвагинации цитоплазматической мембраны в цитоплазму;
Б) Выполняет функции пищеварительной вакуоли;
В) Синтезируют белок;
Г) Выявляют по Циля-Нильсена.

15. Для обнаружения капсул бактерий в чистой культуре используют окраски:

А) Простую;
Б) По Нейссеру;
В) По Грамму;
Г) По Бурри-Гинсу.

16. Что такое трансформация?

А) Передача генетической информации при контакте бактериальных клеток разной «половой» направленности;
Б) Восстановление поврежденной ДНК;
В) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

17. Высшие грибы:

А) Имеют осевую нить;
Б) Имеют септированный мицелий;
В) Образуют вегетативные эндоспоры;
Г) Образуют экзоспоры (конидии).

18. Дайте характеристику простейших:

А) Имеют клеточное строение;
Б) Относятся к эукариотам;
В)Снаружи окружены пелликулой;
Г) Относятся к царству животных.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся:а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты.

Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, б, в;
Б) б, в, г, д;
В) а, в, г, д;
Г) а, б, г, д;

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Для обнаружения кислотоустойчивых бактерий применяют?

2. Для обнаружения зерен волютина бактерий?

А) Окраска по Бури-Гинсу;

Б) Окраска по Цилю-Нильсену;

В) Окраска по Романовскому-Гимзе;

Г) Окраска разведенным карболовым фуксином;

Д) Окраска по Нейссеру.

21.

1. Функцию синтеза белка выполняет:

2. хромосомные генетические структуры у бактерий:

А) Мезосомы;

Б) Рибосомы;

В) Плазмиды;

Г) Транспозоны;

Д) Нуклеоид.

«ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Кто является одним из основоположников иммунологического этапа развития микробиологии и создателем фагоцитарной теории иммунитета?

А) Безредко;

Б) Мечников;

В) Кох;

Г) Пастер.

2. Какие микробы относятся к эукариотам?

А) Простейшие;

Б) Микоплазмы;

В) Грибы;

Г) Хламидии.

3. Структурные особенности прокариотов:

А) Константа седиментации рибосом 70S;

Б) Имеется нуклеоид;

В) Отсутствует аппарат Гольджи;

Г) Отсутствует ядерная мембрана.

4. Что такое стрептобациллы?

А) Кокки, образующие цепочку;

Б) Палочки, образующие цепочку;

В) Извитые формы;

Г) Спорообразующие палочки, располагающие цепочкой.

5. Ветвящиеся формы бактерий:

А) Актиномицеты;

Б) Спириллы;

В) Микоплазмы;

Г) Спирохеты.

6. Микроорганизмы, у которых отсутствие клеточной стенки всегда детерминировано генетически:

А) Протопласты
Б) Сферопласты
В) Хламидии
Г) Микоплазмы

7. Какие свойства характерны для хламидий?

А) Грамотрицательны;
Б) Прокариоты;
В) Облигатные внутриклеточные паразиты;
Г) Имеют извитую форму.

8. Липополисахарид бактериальной клетки расположен в:

А) Цитоплазматической мембране;
Б) Наружной мембране грамположительных бактерий;
В) Мезосомах;
Г) Наружной мембране грамотрицательных бактерий.

9. В состав пептидогликана входят:

А) Тейхоевые кислоты
Б) N-ацетилглюкозамин и М-ацетилмурамовая кислота
В) Липополисахарид (ЛПС)
Г) Молекулы гликана.

10. Какие структуры обязательны для L–формы бактерий?

А) капсула;
Б) ЦПМ;
В) Цитоплазма;
Г) Нуклеоид;
Д) Клеточная стенка.

11. Неспорообразующие бактерии, наиболее устойчивые к действию кислот, щелочей и спирта:

А) Микобактерии;
Б) Клостридии;
В) Эшерихии;
Г) Бациллы.

12. Внутриклеточные включения бактерий:

А) Зерна гликогена;
Б) Митохондрии;
В) Зерна волютина;
Г) Рибосомы.

13. Сложные дифференциально-диагностические методы окраски:

А) Окраска по Цилю-Нельсену;
Б) Окраска синим Леффлера;
В) Окраска по Грамму;
Г) Окраска разведенным карболовым фуксином.

14. При микроскопии исследуемого материала риккетсии обычно обнаруживают:

А) В цитоплазматической мембране;
Б) В мезосомах;
В) Внеклеточно;
Г) В цитоплазме клеток.

15. Для обнаружения зерен волютина у бактерий используют окраску:

А) По Нейссеру;
Б) По Романовскому -Гимзе;
В) По БуррioГинсу;
Г) По Ожешки.

16. Что такое мутагены?

А) Гены, обеспечивающие мутацию;
Б) Факторы, вызывающие мутацию;
В) Факторы, восстанавливающие ДНК;
Г) Фаторы, передающие генетическую информацию.

17. Мицелий грибов – это:

А) Клетка без цитоплазматической мембраны;
Б) Совокупность гиф;
В) Совокупность хламидоспор;
Г) Многоядерная структура.

18. Простейшие:

А) Эукариоты;
Б) Содержат оформленное ядро с ядерной мембраной;
В) Устроены сложнее, чем клетки бактерий;
Г) Прокариоты.

19. К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относятся: а)хламидии; б) вирусы; в) плесневые грибы; г) спирохеты; д) актиномицеты; е) микоплазмы.
Выберите единственную комбинацию, в которой учтены все правильные ответы:

А) а, б, в;
Б) а, г, д, е;
В) в, г, д;
Г) а, в, г, д;
Д) б, г, д.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

20.

1. Трансдукция:
2. Конъюгация:

А) Исправление поврежденных участков ДНК;
Б) Передача генетической информации при помощи бактериофага;
В) Наследственное скачкообразное изменение признака;
Г) Передача генетической информации при скрещивании бактерийй через половые ворсинки.
Д) Передача генетического материала с помощью высокополимеризованной ДНК.

21.

1. Актиномицеты:
2. Хламидии:

А) Грамположительные микробы;
Б) Грамотрицательные микробы;
В) Клетки имеют вид разветвленных нитей;
Г) Образуют экзоспоры;
Д) Облигатные внутриклеточные паразиты.
Е) Эукариоты.

«ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Патогенность микроба - это признак:
А. Генотипический;
Б. Потенциальный;
В. Присущий виду микроба;
Г. Влияющий на восприимчивость макроорганизма.
2. Dlm является единицей измерения:
А. Вирулентности микробов;
Б. Антигенности микробов;
В. Токсигенности микробов;
Г. Иммуногенности микробов.
3. Характерные свойства эндотоксина:
А. Белковая природа;
Б. Вызывает повышение температуры тела;
В. Переводится в анатоксин;
Г. Является фактором патогенности.
4. Характерные признаки инфекционной болезни:
А. Наличие микроба-возбудителя;
Б. Контагиозность;
В. Формирование иммунного ответа;
Г. Цикличность течения.
5. Для септикопиемии характерно:
А. Гематогенное распространение бактерий в макроорганизме;
Б. Размножение бактерий в крови;
Г. Формирование вторичных гнойных очагов во внутренних органах;
Д. Циркуляция микробных токсинов в крови.
6. Назовите форму инфекционного процесса, при которой возбудитель длительное время находится в организме, не проявляя патогенных свойств и не выделяясь в окружающую среду:
А. Бактерионосительство;
Б. Латентная инфекция;
В. Медленная инфекция;
Г. Острая инфекция.
7. Естественно приобретенный иммунитет:
А. После введения иммунных сывороток;
Б. Постинфекционный;
В. Поствакцинальный;
Г. Трансплацентарный.
8. Приобретенный искусственный активный иммунитет:
А. После введения антитоксической сыворотки;
Б. Поствакцинальный;
В. Трансплацентарный;
Г. Постинфекционный.
9. Назовите процесс, защищающий организм от повторных антигенных интервенции:
А. Иммунная толерантность;
Б. Иммунная память;
В. Гиперчувствительность;
Г. Иммунный паралич.
10. Альтернативный путь активации комплемента запускается:

А. Гистамином;
Б. Компонентами клеточной стенки бактерий;
В. Комплексом “антиген-антитело”;
Г. Липополисахаридом.

11. Иммуноглобулин класса G:
А. Связывает комплемент;
Б. Обнаруживается в секретах слизистых;
В. Проходит через плаценту;
Г. Обеспечивает местный иммунитет.

12. Антитела:
А. Синтезируются плазмоцитами;
Б. Способны связывать комплемент;
В. Способны нейтрализовать токсины;
Г. Агглютинируют корпускулярные антигены.

13. Отметьте эффекторные клетки иммунной системы:
А. Т-киллеры;
Б. Т-хелперы;
В. Дендритные клетки;
Г. В-лимфоциты.

14. Феномен иммунологической памяти основан на:
А. Угнетении Т-хелперов;
Б. Отсутствии определенных клонов иммунных клеток;
В. Отсутствии антигенов гистосовместимости;
Г. Образовании клеток памяти.

15. Назовите признаки гиперчувствительности замедленного типа:
А. Лимфоцитарно-макрофагальная реакция;
Б. Синтез Ig E;
В. Участие Т-лимфоцитов;
Г. Участие В-лимфоцитов.

16. Иммуномодуляторы:
А. Воздействуют на патологический процесс через геном;
Б. Обладают иммунотропным действием;
В. Воздействуют на патологический процесс через иммунную систему;
Г. В основе механизма действия лежат иммунологические реакции.

17. Антитоксический иммунитет:
А. Поглощение токсина макрофагами;
Б. Выработка антитоксических антигенов;
В. Активация Т-киллеров;
Г. Выработка антитоксических антител.

18. Назначение РПГА:
А. Серодиагностика инфекционных заболеваний;
Б. Идентификация микроба;
В. Определение специфических антител;
Г. Титрование комплемента.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.
1. Рецидив
2. Реинфекция
3. Суперинфекция
А. Заболевание, возникшее после перенесенной инфекции за счет повторного

заражения тем же возбудителем;
Б. Повторное инфицирование макроорганизма тем же возбудителем до выздоровления;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Пассивный, естественно приобретенный иммунитет
2. Активный, естественно приобретенный иммунитет

А. Постинфекционный;
Б. Поствакцинальный;
В. Трансплацентарный;
Г. Трансплантационный.

21.

1. Антиген в реакции агглютинации
2. Антиген в реакции преципитации

А. Молекулярный;
Б. Корпускулярный;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Вирулентность микробов:
А. Контролируется генами хромосомы и плазмид;
Б. Определяют на чувствительных животных;
В. Изменяется под действием внешних факторов;
Г. Является видовым признаком.

2. Адгезины микробов:
А. Гиалуронидаза;
Б. Эндотоксины;
В. Экзотоксины;
Г. Пили.

3. Свойства бактериальных эндотоксинов:
А. Липополисахаридная природа;
Б. Выделяются бактериями в процессе жизнедеятельности;
В.Не обладает специфичностью действия в организме;
Г. Под действием формалина превращаются в анатоксин.

4. Периоды в развитии инфекционного процесса
А. Продромальный;
Б. Реконвалесценция;
В. Инкубация;
Г. Суперинфекция.

5. Формы инфекций:
А. Реинфекция;
Б. Реконвалесценция;
В. Рецидив;

Г. Инкубация.

6. Автор фагоцитарной теории иммунитета:

А. Бернет Ф.;
Б. Ерне Н.;
В. Эрлих П.;
Г. Мечников И.И.

7. Искусственно приобретенный иммунитет:

А. После введения иммунных сывороток;
Б. Постинфекционный;
В. Поствакцинальный;
Г. Трансплацентарный.

8. Полноценные антигены:

А. Специфичны;
Б. Взаимодействуют со специфическими антителами;
В. Имеют высокую молекулярную массу;
Г. Обладают иммуногенностью.

9. В структуру бактериальной клетки могут входить антигены:

А. Н-антиген;
Б. К-антиген;
В. О-антиген;
Г. HLA-антигены.

10. Биологические жидкости, в которых содержится лизоцим:

А. Слезы;
Б. Тканевая жидкость;
В. Слюна;
Г. Сыворотка.

11. Интерфероны:

А. Продуцируются фибробластами и Т-лимфоцитами;
Б. Продуцируются лейкоцитами;
В. Обладают иммуномодулирующими свойствами;
Г. Обладают видовой специфичностью.

12. Иммуноглобулин класса М:

А. Связывает комплемент;
Б. Проходит через плаценту;
В. Пентамер;
Г. Имеет 2 центра связывания антигена.

13. Секреторный иммуноглобулин класса А:

А. Обеспечивает местный иммунитет;
Б. Является пентамером;
В. Содержит секреторный компонент;
Г. Проходит через плаценту.

14. Местный иммунитет обеспечивают иммуноглобулины:

А. Класса G;
Б. Класса Е;
В. Класса Д;
Г. Класса А.

15. Фагоцитами могут быть клетки:

А. Моноцит;
Б. Нейтрофил;
В. Альвеолярный макрофаг;
Г. Эритроцит.

16. Укажите формы иммунитета, в которых принимает участие

комплемент:

А. Иммунитет слизистых оболочек;
Б. Антитоксический;
В. Антибактериальный гуморальный;
Г. Гуморальны вирусный.

17. Укажите формы иммунитета, в которых принимают участие Т-киллеры:

А. Трансплантационный;
Б. Противоопухолевый;
В. Противовирусный;
Г. Антибактериальный.

18. Перечислите компоненты РПГА:

А. Эритроциты;
Б. Эритроцитарный диагностикум;
В. Гемолитическая сыворотка;
Г. Исследуемая сыворотка.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

1. Экзотоксины
2. Эндотоксины
3. Анатоксины

А. Не обладают токсическими свойствами;
Б. Выделяются микробом в среду;
В. Освобождаются при разрушении бактерий
Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Полноценный антиген
2. Неполноценный антиген

А. Полисахарид;
Б. Белок;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

21.

1. Определение молекулярных антигенов
2. Определение корпускулярных антигенов

А. Реакция преципитации;
Б. Реакция агглютинации;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Патогенность микробов - это признак:

А. Видовой;
Б. Возник в процессе эволюции паразитизма;
В. Генотипический;
Г. Быстро изменяется под влиянием факторов окружающей среды.

2. Адгезивная способность бактерий обусловлена:

А. Наличием пилей;

Б. Наличием пептидогликана;
В. Наличием липотейхоевых кислот;
Г. Образованием белковых токсинов.

3. Характерные свойства эндотоксинов:
А. Сильные антигены;
Б. Находятся в клеточной стенке грамотрицательных бактерий;
В. Термолабильны;
Г. Не чувствительны к формалину.

4. Продромальный период - это период:
А. От момента заражения до начала клинических проявлений болезни;
Б. Интенсивного размножения возбудителя в месте входных ворот;
В. Освобождения макроорганизма от микробов;
Г. Появления неспецифических симптомов инфекционной болезни.

5. Повторные проявления заболевания, вызванного теми же возбудителями:
А. Рецидив;
Б. Вторичная инфекция;
В. Реинфекция;
Г. Смешанная инфекция.

6. Автор гуморальной теории иммунитета:
А. Бернет Ф.
Б. Ерне Н.
В. Мечников И.И.
Г. Эрлих П.

7. Активный иммунитет:
А. После введения иммунных сывороток;
Б. Поствакцинальный;
В. Трансплацентарный;
Г. Постинфекционный.

8. Химические вещества, являющиеся полноценными антигенами:
А. Белок;
Б. Минеральные соли;
В. Полисахарид;
Г. Липид.

9. К факторам неспецифической резистентности относятся:
А. Фагоцитоз;
Б. Лизоцим;
В. Комплемент;
Г. Нормальная микрофлора.

10. Интерфероны:
А. Продуцируются фибробластами и Т-лимфоцитами;
Б. Продуцируются лейкоцитами;
В. Обладают иммуномодулирующими свойствами;
Г. Обладают видовой специфичностью.

11. Иммуноглобулин класса М:
А. Связывает комплемент;
Б. Проходит через плаценту;
В. Пентамер;
Г. Имеет 2 центра связывания антигена.

12. Иммуноглобулин класса Е:
А. Проходит через плаценту;
Б. Пентамер;

В. Обеспечивает местный иммунитет;
Г. Обладает цитофильностью к тучным клеткам и базофилам;

13. Моноклональные антитела:

А. Обладают гетерогенностью;
Б. Синтезируются гибридомой;
В. Синтезируются в организме человека;
Г. Высоко специфичны.

14. В формировании неспецифической резистентности участвуют клетки:

А. Т-хелперы;
Б. Макрофаги;
В. В-лимфоциты;
Г. Естественные киллеры.

15. Функции Т-хелперов:

А. Выработка антител;
Б. Фагоцитоз;
В. Проявление цитотоксичности;
Г. Регуляция иммунного ответа.

16. Нейтрализация вируса вне клетки (вириона) осуществляется:

А. Иммуноглобулинами класса А;
Б. Интерферонами;
В. Иммуноглобулинами класса G;
Г. Т-клетками.

17. Для создания искусственного активного иммунитета используют:

А. Вакцины;
Б. Иммунные сыворотки;
В. Анатоксины;
Г. Толерогены.

18. Перечислите компоненты реакции преципитации:

А. Эритроциты;
Б. Молекулярный антиген;
В. Гемолитическая сыворотка;
Г. Специфическая иммунная сыворотка.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

1. Аэрогенный механизм передачи возбудителя
2. Фекально-оральный механизм передачи возбудителя
3. Трансмиссивный механизм передачи возбудителя

А. Перенос возбудителя путем выделения его с фекалиями и проникновения в организм через ЖКТ;
Б. Перенос возбудителя через кровососущих членистоногих;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Клетки, не имеющие антигенов гистосовместимости
2. Клетки, имеющие антигены гистосовместимости

А. Лимфоциты;
Б. Эритроциты;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

21.

1. Титр агглютинирующей сыворотки

2. Титр гемолитической сыворотки

А. Наибольшее разведение сыворотки, которое вызывает полный лизис эритроцитов в присутствии комплемента;
Б. Минимальное разведение сыворотки, при котором наблюдается гемолиз;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Факторы, обусловливающие патогенность микробов:

А. Продукция ферментов агрессии;
Б. Токсинообразование;
В. Капсулообразование;
Г. Наличие адгезинов.

2. Факторы патогенности бактерий с инвазивной функцией:

А. Мембранотоксины;
Б. Гиалуронидаза;
В. Капсула;
Г. Нейраминидаза.

3. Охарактеризуйте белковые токсины бактерий:

А. Синтезируются грамположительными бактериями;
Б. Выделяются в окружающую среду в процессе жизнедеятельности;
В. Могут частично секретироваться;
Г. Не обладают специфичностью действия.

4. Назовите формы инфекции по признаку локализации возбудителя:

А. Манифестная;
Б. Сепсис;
В. Рецидив;
Г. Септикопиемия.

5. Формы инфекций, характеризующиеся длительным пребыванием микробов в макроорганизме:

А. Бактерионосительство;
Б. Персистенция;
В. Рецидив;
Г. Вторичная инфекция.

6. Периферические органы иммунной системы:

А. Костный мозг;
Б. Тимус;
В. Плазмоциты;
Г. Лимфатические узлы.

7. Пассивный иммунитет:

А. После введения иммунных сывороток;
Б. Поствакцинальный;
В. Трансплацентарный;
Г. Постинфекционный.

8. Гаптены:

А. Определяются в реакции агглютинации;

Б. Взаимодействуют с антителами;
В. Индуцируют в макроорганизме иммунный ответ;
Г. Имеют низкую молекулярную массу.

9. Активация комплемента может начинаться с компонента:

А. С1;
Б. С2;
В. С3;
Г. С4.

10. Иммуноглобулин класса М:

А. Связывает комплемент;
Б. Проходит через плаценту;
В. Пентамер;
Г. Имеет 2 центра связывания антигена.

11. Иммуноглобулин класса Е обладает тропизмом к:

А. Базофилам;
Б. Макрофагам;
В. Тучным клеткам;
Г. Фибробластам.

12. Моноклональные антитела:

А. Высоко специфичны;
Б. Обладают структурной гетерогенностью;
В. Используются как диагностические препараты;
Г. Вырабатываются макрофагами.

13. Феномены иммунного ответа, в которых принимают участие В-лимфоциты:

А. Выработка антител;
Б. Фагоцитоз;
В. Иммунологическая память;
Г. Киллерная функция

14. Укажите иммунокомпетентные клетки, обладающие цитотоксичностью:

А. Естественные киллеры;
Б. Т-хелперы;
В. Т-киллеры;
Г. Базофилы.

15. Для антибактериального иммунитета характерно участие:

А. Комплемента;
Б. Фагоцитов;
В. Антител;
Г. В-лимфоцитов.

16. Признаки гиперчувствительности I типа (анафилаксии):

А. Немедленное развитие реакции;
Б. Возможность десенсибилизации;
В. Участие В-лимфоцитов;
Г. Участие Ig E.

17. Для создания искусственного пассивного иммунитета используют:

А. Вакцины;
Б. Иммунные сыворотки;
В. Иммуноглобулины;
Г. Адъюванты.

18. Назначение реакции преципитации:

А. Определение неизвестных антител по известному антиген;
Б. Определение количества эритроцитов;

В. Определение неизвестного антигена по известным антителам;
Г. Определение титра комплемента.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

1. Антропоноз
2. Зооантропоноз
3. Сапроноз

А. Источник инфекции - человек;
Б. Источник инфекции - животное;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Жгутиковый антиген бактерий
2. Соматический антиген бактериальной клетки

А. Н-антиген;
Б. О-антиген;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

21.

1. Бактериальный диагностикум
2. Диагностическая сыворотка

А. Содержит специфические антитела;
Б. Антиген в корпускулярной форме;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое

«ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ КОККАМИ. ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Гнойно-воспалительные заболевания, вызываемые условно патогенными кокками характеризуются:

А. Различной локализацией;
Б. Многообразием клинических форм;
В. Снижением резистентности макроорганизма;
Г. Слабым иммунным ответом.

2.Для профилактики какой инфекции может быть использован анатоксин?

А. Стафилококковая;
Б.Стрептококковая;
В. Гонококковая;
Г. Менингококковая.

3. Питательные среды, которые можно использовать для выделения условно-патогенных стафилококков:

А. 10 % желточно-солевой агар;
Б. Кровяной агар;
В. Сывороточный агар;
Г. МПА.

4. При каких заболеваниях применяется метод «провокации»

А. Ревматизме;
Б. Менингите;
В. Гонорее;
Г. Синдроме токсического шока.

5. Какой из микроорганизм кокковидной формы продуцирует токсин «синдром токсического шока»:

А. Пневмококк;
Б. Стафилококк;
В. Стрептококк;
Г. Менингококк.

6. Материал для бактериологического метода исследования при менингококковой инфекции:
А. Ликвор;
Б. *Мазок из носоглотки;*
В. Кровь;
Г. Сыворотка.

7. Свойства бактерий рода Salmonella:
А. Продуцируют H_2S;
Б. Лактозоотрицательны;
В. Подвижны;
Г. Грамположительны.
8. Материал для бактериологического исследования при холере:
А. Кровь;
Б. Рвотные массы;
В. Моча;
Г. Испражнения;
9. Для серологического метода диагностики брюшного тифа применяют реакции:
А. РНГА;
Б. ИФА;
В. ПЦР;
Г. РА на стекле.
10. Диареегенные кишечные палочки:
А. Продуцируют энтеротоксины;
Б. Лактозоположительны;
В. Имеют плазмиды патогенности;
Г. Имеют эндотоксин.
11. Питательные среды для выделения и идентификации возбудителя шигеллеза:
А. Плоскирева;
Б. Клиглера;
В. Эндо;
Г. Щелочная пептонная вода.
12. Свойства бактерий рода Shigella:
А. Образуют споры;
Б. Лактозоотрицательны;
В. Имеют Н- антиген;
Г. Не продуцируют H_2S.
13. Факторы патогенности возбудителей холеры:
А. Инвазивные белки наружной мембраны;
Б. Энтеротоксин;
В. Токсин Шига;
Г. Нейраминидаза.
14. Серологический метод диагностики брюшного тифа позволяет:
А. Оценить динамику заболевания;
Б. Выявить бактерионосительство;
В. Провести ретроспективную диагностику;
Г. Определить биохимические свойства возбудителя.
15. Материал для бактериологического исследования на 1-й неделе заболевания

брюшным тифом:
А. Моча;
Б. Испражнения;
В. Сыворотка;
Г. Кровь.

16. Полезные функции кишечной палочки для макроорганизма:
А. Антагонист патогенной гнилостной микрофлоры;
Б. Не расщепляет клетчатку;
В. Участвуют в синтезе витаминов;
Г. Частично расщепляет клетчатку.

17. Методы микробиологической диагностики брюшного тифа на 3-й неделе заболевания:
А. Бактериоскопический;
Б. Бактериологический;
В. Биологический;
Г. Серологический.

18. Развитие диарейного синдрома при сальмонеллезе является результатом:
А. Действия энтеротоксина;
Б. Размножения сальмонелл в эпителиальных клетках поверхностного эпителия;
В. Активации эндотоксином каскада арахидоновой кислоты;
Г. Действия шигаподобного токсина.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

***1.* Незавершенный фагоцитоз:**
2. Образует цепочки клеток в бульонной культуре:
3. Может продуцировать энтеротоксин:
4. Вызывает бленнорею:

А. S.aureus;
Б. S.pyogenes;
В. N.gonorrhoeae.

20.

1. Холера:
2. Шигеллез:
3. Сальмонеллез:
4. Кишечный эшерихиоз:

А.ЭТКП;
Б. S enteritidis;
В. S.typhi;
Г. V.cholerae;
Д. S.sonnei.

21.

1. Агглютинируются поливалентной эшерихиозной ОК-сывороткой (антитела к 0157):
2. Вызывают гнойно-воспалительные заболевания различной локализации:
3. Продуцируют энтеротоксины:
4. Обладает психрофильностью:

А. Условно -патогенные кишечные палочки;
Б. Диареегенные кишечные палочки;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ КОККАМИ. ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Гонококки и менингококки в чистой культуре и исследуемом материале обычно располагаются:

А.Одиночно;

Б. Цепочками;

В. Попарно;

Г. Гроздьями.

2. **Материал для бактериологического исследования при скарлатине:**

А. Кровь;

Б. Моча;

В. Сыворотка;

Г. Мазок из зева.

3. ***Антигенами стафилококков являются:***

А. Протеин А;

Б. Тейхоевые кислоты;

В. Токсины;

Г. Липополисахарид.

4. Для лечения: тяжелых острых стафилококковых инфекций (сепсис и др.) можно использовать:

А. Иммуноглобулин;

Б. Убитая вакцина;

В. Гипериммунная плазма;

Г. Живая вакцина.

5. Для какого возбудителя характерен незавершенный фагоцитоз?

А. Золотистый стафилококк;

Б. Стрептококк;

В. Эпидермальный стафилококк;

Г. Гонококк.

6. В каких формах может протекать менингококковая инфекция?

А. Менингит;

Б. Назофарингит;

В. «Здоровое» носительство;

Г. Фурункулез.

7. **Какие методы используются для диагностики брюшного тифа?**

А. Бактериоскопический;

Б. Бактериологический;

В. Биологический;

Г. Серологический.

8. Свойства бактерий рода Escherichia:

А. Грамположительны;

Б. Лактозоположительны;

В. Образуют споры;

Г. Не продуцируют H_2S.

9. Какими свойствами обладают бактерии сем. Enterobacteriaceae:

А. Грамотрицательные палочки;

Б. Не образуют спор;
В. Факультативные анаэробы;
Г. Имеют зерна волютина.

10. Назовите факторы патогенности шигелл:

А. Инвазивные белки наружной мембраны;
Б. W, V-антигены;
В. Шига-подобный токсин;
Г. Холероген.

11. Какими факторами патогенности обладает возбудитель холеры:

А. Инвазивные белки наружной мембраны;
Б. Энтеротоксин;
В. Токсин Шига;
Г. Нейраминидаза.

12. Серологический метод диагностики брюшного тифа позволяет:

А. Оценить динамику инфекционного процесса;
Б. Выявить бактерионосительство;
В. Провести ретроспективную диагностику;
Г. Серопитировать возбудителя.

13. Какие среды используют при выделении возбудителя холеры?

А. Щелочная пептонная вода;
Б. Клиглера;
В. Щелочной агар;
Г. Желчный бульон.

14. По каким свойствам различаются диареегенные кишечные палочки?

А. Наличие плазмид вирулентности;
Б. Лактозонегативность;
В. Антигенная структура;
Г. Продукция H_2S.

15.Назовите препараты для специфической профилактики брюшного тифа:

А. Химическая вакцина;
Б. Инактивированная корпускулярная вакцина;
В. Бактериофаг;
Г. Анатоксин.

16. Какие препараты используются для лечения и профилактики дизентерии?

А. Интести-бактериофаг;
Б. Дизентерийный бактериофаг;
В. Vi-бактериофаг;
Г. Пиоционеус-бактериофаг.

17. Какие методы диагностики холеры относятся к ускоренным?

А. Иммобилизация в темном поле;
Б. Агглютинация в темном поле;
В. Метод Ермольевой;
Г. Иммунофлюоресцентный метод.

18. Назовите серовары холерного вибриона?

А. Огава;
Б. Инаба;
В. Гикошима;
Г. Холересуис.

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

1. Лецитовителлазная активность на желточно-солевом агаре:
2. Наличие плазмокоагулазы:
3. Отсутствие плазмокоагулазы:

4. Пигментообразование:

А. Золотистый стафилококк;

Б. Стрептококки;

В. Оба;

Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Холера:

2. Паратиф А:

3. Кишечный эшерихиоз:

4. Шигеллез:

А. S.dysenteriae;

Б. V.cholerae;

В. S.typhimurium;

Г. ЭПКП;

Д. S.paratyphi.

21.

1. Относится к серогруппле О1:

2. Устойчив к полимиксину:

3. Чувствителен к бактериофагу С:

4. Продуцирует энтеротоксин:

А. Биовар cholerae;

Б. Биовар eltor;

В. Оба;

Г. Ни то, ни другое.

«ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ КОККАМИ. ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Методы микробиологической диагностики пневмококковой инфекции:

А. Бактериологический;

Б. Серологический;

В. Биологический;

Г. Аллергический.

2. Какие бактерии в чистой культуре и исследуемом материале располагаются попарно?

А. Пневмококки;

Б. Стафилококки;

В. Менингококки;

Г. Все вышеперечисленное верно.

3. Какой материал для микробиологическою исследования следует брать у пациента при подозрении на гонорею?

А. Отделяемое уретры;

Б. Вагинальный мазок;

В. Мазок из зева;

Г. Ректальный мазок.

4. После какого заболевания стрептококковой этиологии формируется прочный иммунитет?

А. Тонзиллит;

Б. Ревматизм;

В. Скарлатина;
Г. Сепсис.

5. Назовите токсин возбудителя скарлатины:
А. Фибринолизин;
Б. Эритрогенин;
В. Эритролизин;
Г. Плазмокоагулаза.

6. Основной путь передачи бленореи новорожденных:
А. Контактный;
Б. Контактно-бытовой;
В. Половой;
Г. Водный.

7. Какие свойства характерны для представителей семейства Enterobacteriaceae:
А. Нуждаются в щелочных питательных средах;
Б. Грамотрицательные палочки;
В. Образуют споры;
Г. Ферментируют углеводы.

8. Какие среды используют для выделения и идентификации возбудителя колиэнтерита?
А. Эндо;
Б. Клиглера;
В. Левина;
Г. Желчный бульон

9. Реакции, используемые для серологического метода диагностики брюшного тифа:
А. РНГА;
Б. ИФА;
В. Развернутая РА;
Г. РА на стекле.

10. По каким свойствам различаются биовары вибриона cholerae и eltor?
А. По реакции агглютинации с ***01***-сывороткой;
Б. По чувствительности к полимиксину;
В. По отношению к сыворотке Инаба;
Г. По чувствительности к специфическим бактериофагам.

11. Развитие диарейного синдрома при сальмонеллезе связано с:
А. Действием энтеротоксина;
Б. Размножением сальмонелл в эпителиальных клетках поверхностного эпителия;
В. Активизацией эндотоксином каскада арахидоновой кислоты;
Г. Блокированием нейрососудистых рецепторов.

12. Назовите серовары холерного вибриона?
А. Огава;
Б. Инаба;
В. Гикошима;
Г. Холересуис.

13. По каким свойствам различаются диареегенные и условно-патогенные кишечные палочки?
А. Психрофильность;
Б. Способность утилизировать лактозу;
В. Способность *продуцировать* H_2S;
Г. Антигенная структура.

14. Методы микробиологической диагностики брюшного тифа на 3-й неделе заболевания:
А. Бактериологический;

Б. Бактериоскопический;
В. Биологический;
Г. *Серологический.*

15. На первом этапе бактериологического исследования при инфекциях, вызванных представителями семейства кишечных бактерий, посев испражнений производится на среды:
А. МПА;
Б. *Клигера;*
В. Пептонную воду;
Г. Лактозосодержашие дифференциально-диагностические среды.

16. какие *среды используют при выделении и идентификации возбудителя сальмонеллеза:*
А. Висмут-сульфитный агар;
Б. *Плоскирева;*
В. Клиглера;
Г. *Селенитовый бульон.*

17. Препараты для специфической профилактики брюшного тифа:
А. Химическая вакцина;
Б. Инактивированная корпускулярная вакцина;
В. Бактериофаг;
Г. Анатоксин.

18. Материал для бактериологического исследования при холере:
А. Кровь;
Б. Рвотные массы;
В. Моча;
Г. Испражнения;

СОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.
1. Отсутствие тропизма
2. Низкая ферментативная активность
3. Высокая ферментативная активность
4. Рост на солевых средах
5. Рост только на богатых белком средах
А. Патогенные нейссерии;
Б. Стафилококки;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

20.

1. Трансцитоз эпителия тонкой кишки с размножением в регионарной лимфоидной ткани кишечника:
2. Инвазия и внутриклеточное размножение в эпителии толстой кишки:
3. Прикрепление и колонизация поверхности эпителия тонкой кишки:
   А. Шигеллы;
   Б. Сальмонеллы;
   В. Холерный вибрион;
   Г. ЭПКП.

21.

1. Расщепляют маннит:
2. Чаще передается водным путем:
3. Чаще передается контактно-бытовым путем:
4. Размножается в ткани кишечника:
   А. S. flexneri;
   Б. S. dysenteriae;
   В. Оба;
   Г. Ни то, ни другое.

«ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ КОККАМИ. ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. У**словно-патогенные кокки, способные вызывать заболевания различной локализации:**
А. Стафилококки;
Б. Пневмококки;
В. Стрептококки;
Г. Менингококки.

2. Биологические свойства возбудителя гонореи:
А. Чувствителен к факторам внешней среды;
Б. Патогенен только для человека;
В. Растет на питательных средах с добавлением человеческого белка;
Г. Подвижен.

3. Основные методы диагностики пневмококковых инфекций:
А. Аллергический;
Б. Бактериологический;
В. Серологический;
Г. Биологический.

4. Множественная лекарственная резистентность у стафилококков обусловлена наличием:
А. Капсулы;
Б. Ent-плазмиды;
В. Гиалуронидазы;
Г. R-плазмиды.

5. Какие кокки чувствительны к оптохину и желчи:

А. Стрептококк;
Б. Стафилококк;
В. Гонококк;
Г. Менингококк.

6. Для β-гемолитических стрептококков характерно:
А. Имеют адгезины - комплекс липотейхоевой кислоты;
Б. Неподвижны, спор и капсул не образует;
В. Продуцируют ферменты: стрептокиназу и гиалуронидазу;
Г. Выделяют токсины**.**

7. Какие антигены вирулентности есть у E.coli?
А. Е;
Б. W;
В. Н;
Г. К;
Д. О.

8. Какими свойствами обладают бактерии рода Shigella?
А. Образуют споры;
Б. Лактозоотрицательны;
В. Обладают Н-антигеном;
Г. Не продуцируют H_2S.

9. Какие вакцины используются для специфической профилактики брюшного тифа?
А. О-вакцины;
Б. АКСД-вакцины;
В. Тифо-паратифостолбнячные вакцины;
Г. БЦЖ.

10. Возбудитель брюшного тифа поражает:
А. Слизистую оболочку желудка;
Б. Эпителий тонкого кишечника;
В. Сердце;
Г. Почки.

11. Возбудителями сальмонеллеза являются:
А. S.enterica;
Б. S. typhi;
В. S. typhimurium;
Г. S. enteritidis.

12. Питательные среды для выделения и идентификации возбудителя шигеллеза:
А. Плоскирева;
Б. Клиглера;
В. Эндо;
Г. Щелочная пептонная вода.

13. Методы микробиологической диагностики брюшного тифа на 3 неделе заболевания:
А. Бактериоскопический;
Б. Бактериологический;
В. Биологический;
Г. Серологический.

14. Серологический метод диагностики брюшного тифа позволяет:
А. Оценить динамику заболевания;
Б. Выявить бактерионосительство;
В. Провести ретроспективную диагностику;
Г. Серотипировать возбудителя.

15. Материал для бактериологического исследования при шигеллезе:
А. Кровь;
Б. Моча;
В. Испражнения;
Г. Сыворотка.

16. Какие среды используют для накопления холерного вибриона?
А. Сахарный бульон;
Б. Желчный бульон;
В. Сывороточный бульон;
Г. Щелочная пептонная вода.

17. Какие антигены имеют сальмонеллы брюшного тифа?
А. О;
Б. Н;
В. Vi;
Г. К;
Д. W.

18. Для серологического метода диагностики брюшного тифа применяют реакции:
А. РНГА;
Б. ИФА;
В. ПЦР;
Г. РА на стекле.

ОСТАВЬТЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ПАРЫ: ВОПРОС-ОТВЕТ

19.

1. Рожистое воспаление:
2. Бленнорея:
3. Синдром токсического шока:
4. Ревматизм:

А. Стафилококк;
Б. Гонококк;
В. Бета -гемолитические стрептококки группы А;
Г. Пневмококк.

20.

1. Прикрепление и колонизация поверхности эпителия тонкой кишки:
2. Трансцитоз эпителия тонкой кишки с размножением в регионарной лимфоидной ткани кишечника:
3. Инвазия и внутриклеточное размножение в эпителии толстой кишки:

А. Шигеллы;
Б. Сальмонеллы;
В. Холерный вибрион;

21.

1. Основной путь передачи - контактно-бытовой:
2. Основной путь передачи – водный:

3. Вырабатывает шигаподобный токсин:
4. Вырабатывает Шига –токсин:
А. S. sonnei;
Б. S. dysenteriae;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ВОЗБУДИТЕЛИ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ПАРАКОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Какую форму может иметь возбудитель дифтерии?
А. Кокковидную;
Б. Полиморфных палочек;
В. Извитую (2-3 завитка);
Г. Ветвящуюся.

2. Микроскопию возбудителя дифтерии проводят:
А. При окраске по Цилю – Нельсену;
Б. В темном поле зрения;
В. При окраске по Нейссеру;
Г. Негативным способом.

3. Для окраски микобактерий используют метод:
А. Ожешко;
Б. Циля – Нельсена;
В. Леффлера;
Г. Романовского-Гимза;
Д. Нейссера.

4. Последовательность этапов бактериологического метода исследования при дифтерии:
А. Определение токсичности;
Б. Посев исследуемого материала на специальные среды;
В. Изучение биохимических свойств;
Г. Пересев колонии для получения чистой культуры.

5. Токсичность дифтерийной палочки определяют с помощью реакции:
А. Агглютинации на стекле;
Б. Гемагглютинация;
В. Кольцепреципитации;
Г. Преципитации в геле.

6. Назовите основные методы микробиологической диагностики дифтерии:
А. Микроскопический;
Б. Биологический;
В. Бактериологический;
Г. Аллергический.

7.Методы микробиологической диагностики коклюша:
А. Бактериоскопический;
Б. Бактериологический;
В. Аллергический;
Г. Серологический.

8. Какой метод используют для ускоренной бактериологической диагностики туберкулеза?
А. Гомогенизация;
Б. Микрокультивирование;
В. Осаждение;
Г. Метод Прайса.

9. Вакцина для специфической профилактики туберкулеза:
А. Убитая;
Б. Живая;
В. Анатоксин;
Г. БЦЖ.

10. Отличить возбудителя туберкулеза от возбудителя лепры при проведении микробиологической диагностики можно по:
А. Кислотоустойчивости;
Б. Росту на искусственных питательных средах;
В. Результатам ПЦР;
Г. Результатам биопробы.

11. Для профилактики лепры применяют:
А. Сухой очищенный туберкулин;
Б. Интегральный лепромин;
В. АКДС;
Г. БЦЖ.

12. Для серодиагностики бруцеллеза применяют:
А. Реакцию Видаля;
Б. Реакцию Райта;
В. Реакцию Вейля- Феликса;
Г. ИФА.

13. Для серодиагностики туляремии применят:
А. РНГА;
Б. РСК;
В. РИФ;
Г. Развернутая РА.

14. Питательные среды для культивирования сибиреязвенных бацилл:
А. ЖСА;
Б. Щелочной агар;
В. Желчный бульон;
Г. МПА.

15. Экспресс- диагностика чума:
А. Газожидкостная хроматография;
Б. РИФ;

В. Фаготипирование;
Г. Фагодиагностика.

16. Вакцины для профилактики зоонозных бактериальных инфекции:
А. Убитые;
Б. Анатоксин;
В. Химические;
Г. Живые.

17. Форма чумы, источником инфекции при которой является только человек:
А. Бубонная;
Б. Кишечная;
В. Кожно-бубонная;
Г. Легочная.

18. Заражение людей бруцеллезом происходит :
А. При контакте с больными животными;
Б. Через молоко и молочные продукты;
В. Через послеродовые выделения;
Г. При контакте с больными людьми.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ

1. Расщепляют мочевину	А. Возбудитель дифтерии
2. Не обладают цистиназой	Б. Условно-патогенные коринебактерии
3. Не имеют уреазу	В. Оба
4. Вырабатывают цистиназу	Г. Ни то, не другое

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ

1. M. leprae	А. Располагаются внутриклеточно, образуя шары
2. M. bovis	Б. Грамотрицательные кокки
3. M. tuberculosis	В. Длинные тонкие палочки
	Г. Короткие толстые палочки

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

1. Грамположительные палочки	А. Возбудитель сибирской язвы
2. Грамотрицательные палочки	Б. Возбудитель бруцеллеза
3. Может образовывать капсулу	В. Оба
4. Подвижны	Г. Ни то, ни другое

«ВОЗБУДИТЕЛИ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ПАРАКОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов

1. Какими морфологическими структурами обладает возбудитель дифтерии?
А. Спорами;
Б. Пилями;
В. Жгутиками;
Г. Зернами волютина.

2. Пути передачи возбудителя туберкулеза:

А. Воздушно- капельный;
Б. Половой;
В. Воздушно- пылевой;
Г. Трансмиссивный.

3.Назоввите основные источники туберкулеза:
А. Больные с открытой формой туберкулеза;
Б. Больные с закрытой формой туберкулеза;
В. Больные сельскохозяйственные животные;
Г. Морские свинки.

4. Какой материал берут на исследование при легочных формах туберкулеза?
А. Мокрота;
Б. Плевральная жидкость;
В. Промывные воды бронхов;
Г. Асцитическая жидкость.
5. Заболевания, вызываемые микобактериями:
А. Актиномикоз;
Б. Туберкулез;
В. Глубокие микозы;
Г. Лепра.

6. Проба Манту ставится для:
А. Отбора лиц, подлежащих ревакцинации;
Б. Лечебной цели;
В. Профилактики туберкулеза;
Г. Контроля эффективности лечения.
7. Какие препараты используют для специфической профилактики туберкулеза?
А. ЖКСВ-Е;
Б. БЦЖ-М;
В. АКДС;
Г. БЦЖ.

8. При диагностике дифтерии делают посев исследуемого материала на среду:
А. Ру;
Б. Эндо;
В. Левина;
Г. Клауберга;
Д. Плоскирева.
9.Факторами вирулентности возбудителя туберкулеза являются:
А. Капсула;
Б. Корд-фактор;
В. Эндотоксин;
Г. Экзотоксин;
Д. Липиды клеточной стенки.
10. Какие методы «обогащения » применяют при микроскопической диагностике туберкулеза?
А. Гомогенизация и осаждение;
Б. Метод Прайса;
В. Метод флотации;
Г. Метод глубинного культивирования.

11. Факторы патогенности возбудителя коклюша:

А. Филаментозный гемагглютинин;
Б. Коклюшный токсин;
В. Внеклеточная аденилатциклаза;
Г. Эндотоксин.

12. Свойство возбудителя коклюша:
А. Требователен к питательным средам;
Б. Биохимически мало активен;
В. Высокочувствителен к факторам окружающей среды;
Г. Растет на простых средах.

13. На каких средах растет возбудитель коклюша?
А. МПА;
Б. Казеиново - угольный агар;
В. Среда Клауберга;
Г. Среда Борде-Жангу.

14. Какие эпидемиологические особенности характерны для лепры?
А. Источник- больной человек;
Б. Контактный путь передачи;
В. Воздушно-капельный путь передачи;
Г. Источник – грызуны.

15. Какие принципы лежат в основе клинико-иммунологической классификации лепры?
А. Гистологические проявления;
Б. Бактериоскопические данные;
В. Результаты кожно-аллергической пробы;
г. Бактериологические данные.

16. Какие методы позволяют отличить возбудители туберкулеза от возбудителя лепры при проведении микробиологической диагностики?
А. Окраска по Цилю-Нельсену;
Б. Рост на искусственных питательных средах;
В. Постановка кожно-аллергических проб;
Г. Определение патогенности для морских свинок и кроликов.

17. Методы микробиологической диагностики чумы:
А. Бактериологический;
Б. Бактериоскопический;
В. Биологический;
Г. Серологический.

18. Методы дифференциации видов бруцелл:
А. Потребность в CO2;
Б. Тинкториальные свойства;
В. Бактериостатическое действие клеток;
Г. Антигенная структура.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ
Восприимчивые животные:

1. M. Bovis	А. Морские свинки
2. M. leprae	Б. Кролики

3. M. tuberculosis В. Броненосцы

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

1. M. leprae	А. Лепра
2. M. kansasii	Б. Микобактериоз
3. M. africanum	В. Туберкулез
4. M. Avium	

21. Составьте логические пары:
Основные методы микробиологической диагностики

А. Бактериоскопический	1. Туляремия;
Б. Бактериологический	2. Сибирская язва;
В. Серологический	3. Оба.
Г. Биологический	4. Ни то, ни другое.
Д. Аллергологический	

«ВОЗБУДИТЕЛИ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ПАРАКОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Заражение людей бруцеллезом происходит:
А. При контакте с больными животными;
Б. Через молоко и молочные продукты;
В. Через послеродовые выделения;
Г. При контакте с больными людьми.

2. Для постановки пробы Бюрне применяют:
А. Пестин;
Б. Антраксин;
В. Тулярин;
Г. Бруцеллин.

3. Как в чистой культуре расположены дифтерийные палочки?
А. Беспорядочно;
Б. Расположение клеток в виде цепочек;
В. Расположение клеток в виде «частокола»;
Г. Расположение клеток в виде V, X.

4. Пути передачи дифтерии:
А. Воздушно-капельный;
Б. Контактный;
В.Алиментарный;
Г. Трансмиссивный.

5. Какой материал для микробиологического исследования следует взять от больного при подозрении на дифтерию?
А. Слизь из зева;
Б. Пленка из зева;
В. Слизь из носа;

Г. Кровь.

6. Питательные среды для культивирования возбудителя дифтерии:
А. МПА;
Б. Кровяной теллуритовый агар;
В. Желточно-солевой агар;
Г. Свернутая сыворотка.

7. Чем обусловлена кислотоустойчивость микобактерий?
А. Большим количеством пептидогликана;
Б. Наличием туберкулина;
В. Наличием ЛПС в наружной мембране;
Г. Миколовыми кислотами.

8. Для культивирования M. leprae проводят:
А. Посев на кровяной агар;
Б. Заражение броненосцев;
В. Заражение кролика in testis;
Г. Заражение платяных вшей.

9.Характерное расположение возбудителя лепры в пораженных тканях:
А. В межклеточных пространствах;
Б. Внутриклеточно;
В. В виде длинных цепочек;
Г. Образует скопления клеток в виде шаров.

10. Метод ускоренной бактериологической диагностики туберкулеза:
А. Гомогенизация;
Б. Микрокультивирование;
В. Осаждение;
Г. Метод Прайса.

11. Какие культуральные свойства характерны для M.tuberculosis?
А. Сухие колонии с неровными краями;
Б. R-формы;
В. Нежная морщинистая пленка на поверхности жидкой питательной среды;
Г. Гладкие ровные колонии белого или серого цвета.

12. Какой антиген используют пи постановке реакции Мицуды?
А. Автоклавированную суспензию возбудителя лепры, полученную путем гомогенизации содержимого лепром;
Б. Лепромин-А;
В. Интегральный лепромин;
Г. Сухой очищенный туберкулин.

13. Плановая специфическая профилактика дифтерии отложена до 3-4 месячного возраста ребенка в связи с:
А. Поступлением секреторных Ig A с молоком матери;
Б. Отсутствием сформировавшейся нормальной микрофлоры;
В. Выработкой высоких титров собственных антител;
Г. Наличие Ig G, поступивших от матери через плаценту.

14. Для лечения хронической формы каких зоонозных инфекций применяют убитые вакцины?
А. Чума;
Б. Туляремия;
В. Сибирская язва;
Г. Бруцеллез.

15. Бактерии вирулентные в R-форме:
А. Бруцеллы;
Б. Сибиреязвенные бациллы;
В. Франциселлы;
Г. Иерсинии.

16. Наиболее часто встречающиеся возбудители бруцеллеза:
А. B. melitensis;
Б. B. ovis;
В. B. abortus;
Г. B. neotome.

17. Факторы патогенности бруцелл:
А. Эндотоксин;
Б. Экзотоксин;
В. Ферменты агрессии;
Г. Капсула.

18. Для серодиагностики бруцеллеза применяют:
А. Реакцию Райта;
Б. Опсонно-фагоцитарную реакцию;
В. Реакцию Хеддльсона;
Г. РПГА.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ
1. Биовар gravis
2. Биовар mitis

А. Образует крупные гладкие красные колонии
Б. Образует мелкие черные колонии
В. Образует крупные шероховатые серые колонии.

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ
1. M. Bovis
2. M.leprae
3. M. tuberculosis

А. Морские свинки;
Б. Кролики;
В. Броненосцы.

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ
1.Выделяют очень много возбудителей
2. Выделяют немного возбудителей
3. Более опасные для окружающих
4. Могут быть источником инфекции при дифтерии

А. Больные дифтерией;
Б. Бактерионосители возбудители дифтерии;
В. Оба;
Г. Ни то, ни другое.

«ВОЗБУДИТЕЛИ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ПАРАКОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА, ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Для культивирования возбудителей туберкулеза используют питательные среды:
А. Левенштейна-Йенсена;
Б. Левина;
В. Петраньяни;
Г. Клауберга.

2. Характерное расположение дифтерийных палочек в чистой культуре:
А. Гроздьями;
Б. В виде цепочек;
В. В виде «частокола»;
Г. Под углом друг к другом.

3. Противодифтерийная антитоксическая сыворотка применяется для:
А. Экстренной профилактики;
Б. Плановой профилактики;
В. Лечения;
Г. Постановки кожно - аллергической пробы.

4.Основные тесты, используемые для идентификации дифтерийной палочки:
А. Проба на цистиназу;
Б. Пробы на индол;
В. Проба на уреазу;
Г. Проба на H2S.

5. Свойства возбудителя коклюша:
А. Грамотрицательная палочка;
Б. Образует экзотоксин;
В. Биохимический мало активен;
Г. Образует споры.

6. На какие органы оказывает патологическое действие дифтерийный токсин?
А. Сердечная мышца;
Б. Почки;
В. Надпочечники;
Г. Нервные ганглии.

7. На каких средах можно культивировать возбудителя дифтерии?
А. МПА;
Б. Кровяной теллуритовый агар;
В. Желточно-солевой агар;
Г. Свернутая сыворотка**.**

8. Какими свойствами обладает возбудитель коклюша?
А. Требователен к питательным средам;
Б. Биохимический мало активен;
В. Высокочувствителен к факторам окружающей среды;
Г. Растет на простых средах.

9. Пути передачи возбудителя проказы:
А. Воздушно-капельный;
Б. Половой;
В. Контактный;
Г.Трансмиссивный.

10. Профилактика туберкулеза проводится введением:
А. Анатоксина;
Б. Антитоксина;
В.Туберкулина;
Г. БЦЖ.

11. Биологические модели для культивирования возбудителя лепры:
А. Морские свинки;
Б. Кролики;
В. Золотистые хомячки;
Г. Броненосцы.

12. Методы «обогащения» исследуемого материала при микроскопической диагностике туберкулеза:
А. Гомогенизация и осаждение;
Б. Метод Прайса;
В. Метод флотации;
Г. ПЦР.

13. Для профилактики лепры применяют:
А. Сухой очищенный туберкулин;
Б. Интегральный лепромин;
В. АКДС;
Г. БЦЖ.

14. Какие эпидемиологические особенности характерны для лепры?
А. Источник- больной человек;
Б. Контактный путь передачи;
В. Воздушно-капельный путь передачи;
Г. Источник – грызуны.

15. Вакцина, применяемая для профилактики бруцеллеза:
А. СТИ;
Б. Живая корпускулярная Эльберта-Гайского;
В. EV;
Г. Живая корпускулярная Вершиловой (ВА-19А).

16. Материал от больного для бактериологического исследования при туляремии:
А. Кровь;
Б. Пунктат лимфоузлов;
В. Мокрота;
Г. Сыворотка крови.

17. Факторы патогенности сибиреязвенных бацилл:
А. Пили;
Б. Споры;

В. Эндотоксин;
Г. Экзотоксин.

18. Тест «жемчужного ожерелья» на среде с пенициллином применяют для индентификации:
А. Иерсинии;
Б. Франциселл;
В. Бруцелл;
Г.Сибиреязвенных бацилл.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ
1. B. Pertussis А. Паракоклюш;
2. L. Pneumophila Б. Коклюш;
3. B. Parapertussis В. Паратиф;
Г. Легионеллез.

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ
Восприимчивые животные:
1. M. Bovis А. Морские свинки
2. M. leprae Б. Кролики
3. M. tuberculosis В. Броненосцы

21. Морфологические и тинкториальные свойства возбудителей кровяных инфекций:
1. Грамположительные палочки А. Йерсинии чумы
2. Грамотрицательные палочки Б. Возбудитель туляремии
3. Овоидная форма В. Оба
4. Образует субтерминальные споры Г. Ни то, ни другое

«ВОЗБУДИТЕЛИ АНАЭРОБНЫХ КЛОСТРИДИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПАТОГЕННЫЕ СПИРОХЕТЫ И СПИРОХЕТОЗЫ. МИКОПЛАЗМЫ. ХЛАМИДИИ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Возникновение заболевания столбняком обусловлено попаданием в организм:
А. Brucella melitensis;
Б.Экзотоксинов Clostridium difficile;
В. Clostridium tetani и ее экзотоксином;
Г. Clostridium novyi через рану.

2. По типу дыхания клостридии:
А. облигатные анаэробы;
Б. Факультативные анаэробы;
В. Облигатные аэробы;
Г. Факультативные аэробы;
Д. Микроаэрофилы.

3. К возбудителям газовой гангрены относятся:
А. Clostridium perfringens;
Б. Clostridium tetani;
В. Clostridium botulinum;
Г. Clostridium novyi.

4. Пути передачи ботулизма:
А. Парентеральный;
Б. Раневой;
В. Контактно-бытовой;
Г. Пищевой.

5. Возбудители столбняка являются:
А. Фузобактерии;
Б. Клостридии;
В. Бактероиды;
Г. Пептококки.

6. Для клостридии характерно:
А. Образование капсулы;
Б. Образование спор;
В. Наличие зерен волютина;
Г. Анаэробный тип дыхания.

7. Иммунитет после перенесенного ботулизма:
А. Антитоксический;
Б. Антибактериальный;
В. Местный;
Г. Не формируется.

8. Неспорообразующие анаэробы:
А. Бактероиды;
Б. Клостридии;
В. Фузобактерии;
Г. Вейлонеллы.

9. Иммунобиологические препараты для профилактики и лечения ботулизма:
А. Антитоксическая сыворотка;
Б. АКДС;
В. Тетраанатоксин;
Г. АДС.

10. Возбудитель сифилиса:
А. T. pertenue;
Б. T.pallidum;
В. N.gonorrhoeae;
Г. N.meningitidis.

11. Охарактеризуйте возбудителя лептоспироза:
А. Тонкие светлые нити с загнутыми концами;
Б. Окрашиваются в фиолетовый цвет;
В. Число завитков 20-40;
Г. Образуют цисты.

12. Устойчивость возбудителя сифилиса в окружающей среде:
А. Устойчив к дезинфектантам;
Б. Слабоустойчив в окружающей среде;
В. Устойчив к повышенной температуре;
Г. Устойчив к высыханию.

13. Для сифилиса характерно:
А. Проникновение возбудителя через кожу и слизистые;
Б. Заражение трансплацентарным путем;
В. Протекает циклически;
Г. Протекает в виде сепсиса.

14. Какими свойствами обладают спирохеты?
А. Имеют тонкую клеточную стенку;
Б. Грамотрицательны;
В. Тонкие спирально изогнутые клетки;
Г. Имеют цитоплазматический цилиндр.

15. Какие свойства характерны для хламидий?
А. Грамотрицательные;
Б. Прокариоты;
В. Облигатные внутриклеточные паразиты;
Г. Имеют извитую форму.

16. Источник инфекции при сыпном тифе:
А. Больной;
Б. Носитель;
В. Животные;
Г. Вши.

17. Иммунитет при сыпном тифе:
А. Антибактеиальный;
Б. Антитоксический;
В. Нестерильный;
Г. Местный.

18. Методы культивирования риккетсии:
А. На кровяном агаре;
Б. В анаэростате;
В. В курином эмбрионе;
Г. На сывороточных средах.

19. Составьте логические пары:
А. Биопроба на кроликах-сосунках
Б. Хорошо воспринимают анилиновые красители
В. Микроскопируют в темном поле зрения

1. Возбудители болезни Лайма
2. Возбудитель лептоспироза
3. Оба
4. Ни то, ни другое.

20. Иммунологические препараты для создания активного иммунитета:

А. АКДС	1. Столбняк
Б. Противостолбнячная сыворотка	2. Газовая гангрена
В. АДС-м	3. Оба
Г. Противогангренозная сыворотка	4. Ни то, не другое.

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Для бактериоскопической диагностики используют микроскопию в темном поле.
Б. Для бактериоскопической диагностики проводят микроскопию мазков, окрашенных по Граму.
В. Для диагностики ставят кожно-аллергическую пробу.
Г. Возможен контактно-бытовой путь передачи.
Д. Антропоноз.

1. Сифилис
2. Гонорея
3. Оба
4. Ни то, ни другое

«ВОЗБУДИТЕЛИ АНАЭРОБНЫХ КЛОСТРИДИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПАТОГЕННЫЕ СПИРОХЕТЫ И СПИРОХЕТОЗЫ. МИКОПЛАЗМЫ. ХЛАМИДИИ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. К возбудителям анаэробной инфекции относится:
А. Клостридии;
Б. Микоплазмы;
В. Микобактерии;
Г. Хламидии.

2. Заболевание ботулизмом обусловлена попаданием в организм человека:
А. Brucella bovis;
Б. Экзотоксинов Clostridium tetani;
В. Clostridium botulinum и их экзотоксинов;
Г. Спор Clostridium difficile.

3. Клостридии образуют:
А. Гемозолин;
Б. Каталазу;
В. Лецитиназу;
Г. ДНК-азу.

4. Клостридиальные анаэробы культивиуют в среде:
А. Вильсона-Блера;
Б. Солевые среды;
В. Желчный бульон;
Г. Высокий столбик сахарного агара.

5. Для диагностики газовой гангрены применяют:
А. Бактериологический метод исследования;
Б. Биологический;
В. Микроскопический;
Г. Серологический метод.

6. Столбняк - это инфекция:
А. Анаэробная;
Б. Контактная;
В. Кишечная;
Г. Раневая.

7. Клостридии - это:
А. Грам+ аэробы;
Б. Грам- аэробы;
В. Грам+ анаэробы;
Г. Грам- анаэробы.

8. Назовите особенности спирохет:
А. Грамотрицательные бактерии;
Б. Имеют двигательный фибриллярный аппарат;
В. Имеют извитую форму.
Г. Являются абсолютными паразитами.

9. Особенности боррелий:
А. Извитые бактерии с 3-8 завитками
Б. Тонкие извитые клетки с загнутыми концами
В. Окрашиваются по Романовскому-Гимзе в фиолетовый цвет
Г. Слабо воспринимают анилиновые красители.

10. Морфология возбудителя сифилиса:
А. Тонкая бактерия спиралевидной формы;
Б. Толстая палочка;
В. Кокки бобовидной формы;
Г. Вибрион.

11. Культуральные свойства возбудителя сифилиса:
А. Можно культивировать в яичке кролика;
Б. Можно культивировать на средах, содержащих кусочки органов;
В. Культивируют в анаэробных условиях;
Г. Культивировать можно в аэробных условиях.

12. Методы бактериоскопической диагностики сифилиса:
А. Окраска серебрением;
Б. Окраска метиленовым синим;
В. Темнопольная микроскопия;
Г. Окраска по Граму.

13. Назовите облигатные внутриклеточные паразиты:
А. Риккетсии;
Б. Актиномицеты;
В. Спирохеты;
Г. Хламидии.

14. Серологические реакции, используемые при диагностике сыпного тифа:
А. Агглютинация;
Б. РСК;
В. РПГА;

Г. Преципитация.

15. Микоплазмы вызывают:
А. Атипичную пневмонию;
Б. Поражения мочеполового тракта;
В. Сыпной тиф;
Г. Возвратный тиф.

16. Основным методом выявления хламидий является:
А. Окраска по Романовскому-Гимзе;
Б. Окраска по Нейссеру;
В. Окраска по Здрадовскому;
Г. Окраска по Бурри.

17. Назовите основные факторы патогенности риккетсии:
А. Микрокапсула;
Б. Фосфолипаза А2;
В. Адгезины *(OmpA, OmpB);*
Г. Экзотоксин.

18. Отметьте возбудителей, вызывающие заболевание дыхательного тракта, при котором источником инфекции является человек:
А. C. trachomatis;
Б. M. pneumoniae;
В. C. psittaci;
Г. C. pneumoniae.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ
А. Передаются воздушно-капельным путем
Б. Передаются половым путем
В. Имеют липоидный антиген, идентичный липоидному экстракту бычьего сердца
Г. При попадании в фагоциты вызывают незавершенный фагоцитоз

1. T.pallidum
2.N.gonorrhoeae
3. Оба
4. Ни то, ни другое

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ
Морфологические и тинкториальные свойства возбудителей:

А. Грамположительные палочки	1. Возбудитель столбняка
Б. Терминальные споры	2. Возбудители газовой гангрены
В. Субтерминальные споры	3. Оба
Г. Располагаются цепочкой	4. Ни то, ни другое

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Эпидемический возвратный тиф	1. B. burgdorferi
Б. Сифилис	2. L. interrogans
В. Болезнь Лайма	3. B. recurrentis
Г. Лептоспироз	4. T.pallidum

«ВОЗБУДИТЕЛИ АНАЭРОБНЫХ КЛОСТРИДИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПАТОГЕННЫЕ СПИРОХЕТЫ И СПИРОХЕТОЗЫ. МИКОПЛАЗМЫ. ХЛАМИДИИ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Возбудители столбняка являются:
А. Фузобактерии;
Б. Клостридии;
В. Бактероиды;
Г. Пептококки.

2. Для клостридии характерно:
А. Образование капсулы;
Б. Образование спор;
В. Наличие зерен волютина;
Г. Анаэробный тип дыхания.

3. Методы микробиологической диагностики ботулизма:
А. Бактериоскопический;
Б. Бактериологический;
В. Биологический;
Г. Серологический.

4. Clostridium perfringens является возбудителем:
А. Пищевой токсикоинфекции;
Б. Псевдомембранозного колита;
В. Газовой гангрены;
Г. Токсинемической инфекции.

5. Неспорообразующие анаэробы:
А. Бактероиды;
Б. Клостридии;
В. Фузобактерии;
Г. Вейлонеллы.

6. Иммунобиологические препараты для профилактики и лечения ботулизма:
А. Антитоксическая сыворотка;
Б. АКДС;
В. Тетраанатоксин;
Г. АДС.

7. Возникновение заболевания столбняком обусловлено попаданием в организм:
А. Brucella melitensis;
Б.Экзотоксинов Clostridium difficile;
В. Clostridium tetani и ее экзотоксином;
Г. Clostridium novyi через рану.

8. По типу дыхания клостридии:
А. Облигатные анаэробы;
Б. Факультативные анаэробы;

В. Облигатные аэробы;
Г. Микроаэрофилы.

9. К возбудителям газовой гангрены относятся:
А. Clostridium perfringens;
Б. Clostridium tetani;
В. Clostridium botulinum;
Г. Clostridium novyi.

10. Пути передачи ботулизма:
А. Парентеральный;
Б. Раневой;
В. Контактно-бытовой;
Г. Пищевой.

11. Для сифилиса характерно:
А. Проникновение возбудителя через кожу и слизистые;
Б. заражение трансплацентарным путем;
В. Протекает циклически;
Г. Протекает в виде сепсиса.

12. Антигены, используемые для постановки РСК при диагностике сифилиса:
А. О-антиген;
Б. Кардиолипиновый;
В. Растворимый антиген;
Г. Трепонемальный специфический.

13. Какими свойствами обладают спирохеты?
А. Имеют тонкую клеточную стенку;
Б. Грамотрицательны;
В. Тонкие спирально изогнутые клетки;
Г. Имеют цитоплазматический цилиндр.

14. Какие свойства характерны для хламидий?
А. Грамотрицательные;
Б. Прокариоты;
В. Облигатные внутриклеточные паразиты;
Г. Имеют извитую форму.

15. Охарактеризуйте возбудителя лептоспироза:
А. Тонкие светлые нити с загнутыми концами;
Б. Окрашиваются в фиолетовый цвет;
В. Число завитков 20-40;
Г. Образуют цисты.

16. Источник инфекции при сыпном тифе:
А. Больной;
Б. Носитель;
В. Животные;
Г. Вши.

17. Иммунитет при сыпном тифе:

А. Антибактеиальный;
Б. Антитоксический;
В. Нестерильный;
Г. Местный.

18. Методы культивирования риккетсии:
А. На кровяном агаре;
Б. В анаэростате;
В. В курином эмбрионе;
Г. На сывороточных средах.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ
А. Для бактериоскопической диагностики используют микроскопию в темном поле.
Б. Для бактериоскопической диагностики проводят микроскопию мазков, окрашенных по Граму.
В. Для диагностики ставят кожно-аллергическую пробу
Г. Возможен контактно-бытовой путь передачи.
Д. Антропоноз.

1. Сифилис
2. Гонорея
3. Оба
4. Ни то, ни другое

20. Иммунобиологические препараты для создания активного иммунитета:

А. АКДС	1. Столбняк
Б. Противостолбнячная сывортока	2. Газовая гангрена
В. АДС-М	3. Оба
Г. Противогангренозная сывортка.	4. Ни то, ни другое.

21. Установите соответствие вызываемой инфекции и вида возбудителя:

А. Столбняк	1. Cl. botulinum
Б. Газовая гангрена	2. Cl. tetani
В. Ботулизм	3. F. nucleatum
Г. Фузоспирохетоз	4. Cl. novyi

«ВОЗБУДИТЕЛИ АНАЭРОБНЫХ КЛОСТРИДИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПАТОГЕННЫЕ СПИРОХЕТЫ И СПИРОХЕТОЗЫ. МИКОПЛАЗМЫ. ХЛАМИДИИ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Столбняк - это инфекция:
А. Анаэробная;
Б. Контактная;
В. Кишечная;
Г. Раневая.

2. К возбудителям анаэробной инфекции относится:
А. Клостридии;
Б. Микоплазмы;
В. Микобактерии;
Г. Хламидии.

3. Клостридии - это:
А. Грам+ аэробы;
Б. Грам- аэробы;
В. Грам+ анаэробы;
Г. Грам- анаэробы.

4. Для диагностики газовой гангрены применяют:
А. Бактериологический метод исследования;
Б. Биологический;
В. Микроскопический;
Г. Серологический метод.

5. Заболевание ботулизмом обусловлена попаданием в организм человека:
А. Brucella bovis;
Б. Экзотоксинов Clostridium tetani;
В. Clostridium botulinum и их экзотоксинов;
Г. Спор Clostridium difficile.

6. Клостридии образуют:
А. Гемозолин;
Б. Каталазу;
В. Лецитиназу;
Г. ДНК-азу.

7. Клостридиальные анаэробы культивиуют в среде:
А. Вильсона-Блера;
Б. Солевые среды;
В. Желчный бульон;
Г. Высокий столбик сахарного агара.

8. Назовите особенности спирохет:
А. Грамотрицательные бактерии;
Б. Имеют двигательный фибриллярный аппарат;
В. Имеют извитую форму.
Г. Являются абсолютными паразитами.

9. Морфология возбудителя сифилиса:
А. Тонкая бактерия спиралевидной формы;
Б. Толстая палочка;
В. Кокки бобовидной формы;
Г. Вибрион.

10. Особенности боррелий:
А. Извитые бактерии с 3-8 завитками
Б. Тонкие извитые клетки с загнутыми концами
В. Окрашиваются по Романовскому-Гимзе в фиолетовый цвет
Г. Слабо воспринимают анилиновые красители.

11. Методы бактериоскопической диагностики сифилиса:
А. Окраска серебрением;
Б. Окраска метиленовым синим;
В. Темнопольная микроскопия;
Г. Окраска по Граму.

12. Культуральные свойства возбудителя сифилиса:
А. Можно культивировать в яичке кролика;
Б. Можно культивировать на средах, содержащих кусочки органов;
В. Культивируют в анаэробных условиях;
Г. Культивировать можно в аэробных условиях.

13. Назовите облигатные внутриклеточные паразиты:
А. Риккетсии;
Б. Актиномицеты;
В. Спирохеты;
Г. Хламидии.

14. Серологические реакции, используемые при диагностике сыпного тифа:
А. Агглютинация;
Б. РСК;
В. РПГА;
Г. Преципитация.

15. Микоплазмы вызывают:
А. Атипичную пневмонию;
Б. Поражения мочеполового тракта;
В. Сыпной тиф;
Г. Возвратный тиф.

16. Назовите основные факторы патогенности риккетсии:
А. Микрокапсула;
Б. Фосфолипаза А2;
В. Адгезины *(OmpA, OmpB);*
Г. Экзотоксин.

17. Отметьте возбудителей, вызывающие заболевание дыхательного тракта, при котором источником инфекции является человек:
А. C. trachomatis;
Б. M. pneumoniae;
В. C. psittaci;
Г. C. pneumoniae.

18. Основным методом выявления хламидий является:
А. Окраска по Романовскому-Гимзе;
Б. Окраска по Нейссеру;
В. Окраска по Здрадовскому;
Г. Окраска по Бурри.

19. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Эпидемический возвратный тиф	1. B. burgdorferi
Б. Сифилис	2. L. interrogans
В. Болезнь Лайма	3. B. recurrentis
Г. Лептоспироз	4. T.pallidum

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Грамотрицательные	1. Бактероиды
Б. Кокки	2. Вейлонеллы
В. Палочки	3. Оба
Г. Образуют субтерминальные споры	4. Ни то, ни другое.

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Гр+Кокки	1. Пептострептококки
Б. Гр+ палочки	2. Клостридии
В. Аэробы	3. Оба
Г. Анаэробы	4. Ни то, ни другое.

«ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ. ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ»

I ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. **В патогенезе вирусных болезней решающую роль играет:**
   а) вирулентность вируса;
   б) токсигенность вируса;
   в) уровень лизоцима;
   г) реакция организма на клетки, пораженные вирусом.

2. **Установить серологический тип вируса гриппа можно с помощью:**
   а) реакции агглютинации на стекле;
   б) реакции торможения гемагглютинации;
   в) реакции непрямой гемагглютинации;
   г) реакции гемагглютинации.
3. **В патогенезе СПИДа важное место занимает:**
   а) трансформация PrP^{c}-белков в PrP^{sc}-белки;
   б) безудержная пролиферация В-лимфоцитов;
   в) накопление патологических миеломных белков;
   г) поражение Т-хелперов и макрофагов.

4. **Интерферон обеспечивает противовирусную защиту клетки, т.к. препятствует:**
   а) адсорбции вируса на клетке;
   б) проникновению вируса в клетку;
   в) репродукции вируса;
   г) лизису пораженной клетки;
5. **ВИЧ относится к группе вирусов:**
   а) ДНК-геномных;
   б) РНК-геномных;
   в) сложных;
   г) простых.
6. **Для серодиагностики вирусных гепатитов применяют:**
   а) реакцию торможения гемагглютинации;
   б) иммуноферментный анализ;

в) реакцию непрямой (пассивной) гемагглютинации;
г) реакцию гемагглютинации;

7. Нейротропными вирусами считаются:

а) вирус гриппа;
б) вирус гепатита С;
в) вирус бешенства;
г) вирус краснухи.

8. Вирус Эпштейна-Барр вызывает:

а) Саркому Капоши;
б) Инфекционный мононуклеоз;
в) Опоясывающий лишай;
г) Цитомегалию.

9. Для плановой специфической профилактики полиемилита используют:

а) живую вакцину Сэбина;
б) анатоксин;
в) убитую вакцину;
г) специфическую сыворотку;

10. Вирус краснухи вызывает:

а) Панэнцефалит;
б) острую респираторную инфекцию;
в) врожденную патологию;
г) острую кишечную инфекцию.

11. Вирус птичьего гриппа относится:

а) к вирусу гриппа типа С;
б) к вирусу гриппа типа А;
в) к вирусу гриппа типа В;
г) к вирусу гриппа типа Д.

12. Вирусы полиомиелита относят к семейству:

а) калицивирусов;
б) ретровирусов;
в) поксвирусов;
г) пикорнавирусов.

13. Основной путь передачи вируса гепатита А:

а) парентеральный;
б) воздушно-капельный;
в) фекально-оральный;
г) контактный.

14. Какой тип нуклеиновой кислоты содержит вирус гепатита В?

а) РНК;
б) ДНК;
в) ДНК и РНК.

15. Что представляет собой мицелий грибов?

а) это клетка, лишенная цитоплазматической мембраны;
б) это совокупность гиф;
в) это совокупность хламидоспор;
г) это многоядерная структура.

16. Дрожжеподобные грибы характеризуются:

а) наличием круглых или овальных клеток;
б) способностью размножаться половым путем;
в) способностью размножаться только бесполым путем;
г) способностью образовывать споры.

17. Грибы рода Candida:

а) относятся к дрожжеподобным грибам;
б) относятся к нитчатым грибам;
в) относятся к мицелярным грибам;
г) являются патогенными.

18. При кератомикозах поражаются:

а) роговой слой эпидермиса;
б) кости;
в) волосы;
г) внутренние органы.

Составьте логические пары: вопрос-ответ

19.

1. Условно-патогенные грибы:	а. Trichophyton
2. Дерматофиты:	б. Род Aspergillus
3. Образуют конидии:	в. Оба
4. Образуют афлатоксины:	г. Ни то, ни другое

20. Укажите соответствие между путём передачи вируса и заболеванием

1. Фекально-оральный	а. Гепатиты В
2. Парентеральный	б. Полиомиелит
3. воздушно-капельный	в. Гепатиты А
	г. Краснуха

21.

1. К рабдовирусам относятся:
2. К ортомиксовирусам относятся:
А. вирус эпидмического паротита.
Б. Вирус бешенства
В. Вирус клещевого энцефалита;
Г. Вирусы гриппа.

«ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ. ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ»

II ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Определить антитела в крови больного к определенному серотипу вируса гриппа можно с помощью:

а) реакции агглютинации на стекле;
б) реакции гемагглютинации;
в) иммуноферментного анализа.

2. Реакция торможения гемагглютинации может быть применена для:

а) обнаружения вируса гриппа в исследуемом материале;
б) идентификация вируса гриппа;

в) определение количества вируса в исследуемом материале;
г) обнаружения антител к вирусу в крови.

3. Укажите вирус гепатита, требующий для репликации участие «вируса-помощника»:

а) VGA;
б) VGB;
в)VGC;
г) VGD.

4. Интерферон обладает следующим действием:

а) лизирующим в отношении пораженной клетки;
б) стимулирующим фагоцитоз;
в) ингибирующим трансляцию;
г) специфическим связыванием с вирусом.

5. Вирус гриппа относится к группе вирусов:

а) ДНК-геномных;
б) РНК-геномных;
в) сложных;
г) семейства ортомиксовирусов.

6. Характерными признаками семейства ретровирусов являются:

а) H и N антигены капсида;
б) фермент обратная транскриптаза;
в) фрагментированность генома;
г) две идентичные нити РНК в геноме.

7. Энтеротропными считаются:

а) вирус полиомиелита;
б) вирус гепатита С;
в) вирус бешенства;
г) вирусы Коксаки и Эхо.

8. Вирусы гриппа – это:

а) ДНК-содержащие вирусы
б) простые вирусы
в) РНК-содержащие вирусы
г) сложные вирусы.

9. Для специфической профилактики бешенства используют:

а) живую вакцину;
б) анатоксин;
в) инактивированную вакцину;
г) гамма-глобулин.

10. Антигенный дрейф и шифт имеют отношение к следующим антигенам вируса гриппа:

а) рибонуклеопротеиду NP;
б) матричному белку M;
в) нейраминидазе N;
г) гемагглютинину H.

11. Какой тип нуклеиновой кислоты содержит вирус ветряной оспы?

а) РНК;
б) ДНК;

в) ДНК и РНК;
г) не содержит нуклеиновую кислоту.

12. Вирусы полиомиелита – это:
а) ДНК-содержащие вирусы;
б) простые вирусы;
в) РНК-содержащие вирусы;
г) сложные вирусы.

13. Какой тип нуклеиновой кислоты содержат вирусы гепатитов А и Е?
а) ДНК;
б) РНК;
в) ДНК и РНК;
г) не содержит нуклеиновую кислоту.

14. К системным, или глубоким микозам относится:
а) Гистоплазмоз;
б) Фавус (парша);
в) Споротрихоз;
г) Микроспория.

15. Что такое конидии?
а) Эндоспоры;
б) Экзоспоры;
в) Спорообразующие структуры;
г) Поперечная перегородка в гифе.

16. Оппортунистические микозы:
а) Вызывают патогенные грибы;
б) Вызывают условно-патогенные грибы;
в) Вызывают неклассифицированные патогенные грибы;
г) Вызывают дерматофиты.

17. Микозы – это заболевания, вызванные:
а) Бактериями;
б) Грибами;
в) Простейшими;
г) Хламидиями.

18. Для выделения грибов из патологического материала используют:
а) МПА;
б) среду Сабуро;
в) сывороточный агар;
г) МПБ.

Составьте логические пары: вопрос-ответ

19.

1. Кератомикозы:	А. Microsporum
2. Субкутанные микозы:	Б. Возбудитель разноцветного лишая
3. Глубокие микозы:	В. Споротрихоз
4. Эпидермофитии:	Г. Бластомикоз.

20. Установите соответствие между путём заражения и видом вируса гепатита

1. Фекально-оральный	А. VGA
2. Парентеральный	Б. VG B
3. Половой	В. VGE

21. Какой тип нуклеиновой кислоты содержат вирусы?

1. Герпесвирусы
2. Вирус парагриппа
3. Вирус полиомиелита

А. ДНК
Б. РНК
В. ДНК и РНК
Г. ни то, ни другое.

«ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ. ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ»

III ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Специфическими факторами защиты организма от вирусов являются:
а) NK - клетки (нормальные киллеры);
б) интерфероны;
в) slgA;
г) CD8 - клетки (Т-киллеры).

2. ВИЧ культивируют в:
а) курином эмбрионе;
б) культуре клеток ПЭ4;
в) легких белых мышей;
г) культуре CD4 лимфоцитов.

3. Синтез интерферонов кодируется:
а) геномом вируса;
б) генами HLA;
в) профагом;
г) провирусом.

4. Вирус гриппа культивируют в:
а) культуре CD4 лимфоцитов;
б) легких белых мышей;
в) курином эмбрионе;
г) культуре клеток ПЭ4.

5. Неспецифическая резистентность к вирусам гриппа зависит от наличия:
а) лизоцима;
б) комплемента;
в) ингибиторов;
г) интерферонов.

6. К вирусам гепатита, имеющим сложное строение относят:
а) VGA;
б) VGB;
в) VGC;

г) VGE.

7. Медленные вирусные болезни характеризуются:

а) инкубационный период продолжается месяцы и годы;
б) рецидивирующее поражение ЦНС и иммунной системы;
в) прогрессирующее течение с летальным исходом;
г) острым течением с поражением жизненно важных органов.

8. Клиника СПИДа определяется рядом осложнений, вызванных оппортунистическими аентами:

а) герпес-вирусами;
б) возбудителем дифтерии;
в) грибами Кандида;
г) микобактериями туберкулеза.

9. Для специфической профилактики клещевого энцефалита используют:

а) живую вакцину;
б) анатоксин;
в) убитую вакцину;
г) антигриппин.

10. Вирусы гриппа относят к семейству:

а) коронавирусов;
б) аденовирусов;
в) парамиксовирусов;
г) ортомиксовирусов.

11. Для вируса натуральной оспы характерно:

а) РНК-содержащий простой вирус;
б) ДНК-содержащий сложный вирус;
в) содержит гемагглютинин;
г) не содержит гемагглютинин.

12. Какой класс иммуноглобулинов сыворотки крови больного гепатитом А свидетельствует об активности (остроте) процесса?

а) lgG;
б) Ig A;
в) Ig M;
г) Ig E.

13. Сколько серотипов имеют вирусы полиомиелита?

а) 5
б) 7
в) 3
г) 2

14. Вирус иммунодефицита человека характеризуется следующими свойствами:

а) ДНК-содержащий;
б) РНК-содержащий;
в) простой вирус;
г) сложный вирус.

15. Что представляет собой мицелий грибов?

а) это клетка, лишенная цитоплазматической мембраны;
б) это совокупность гиф;
в) это совокупность хламидоспор;
г) это многоядерная структура.

16. Дрожжеподобные грибы не характеризуются:

а) наличием круглых или овальных клеток;
б) способностью размножаться половым путем;
в) способностью размножаться только бесполым путем;
г) способностью образовывать споры.

17. Грибы рода Candida:
а) относятся к дрожжеподобным грибам;
б) относятся к нитчатым грибам;
в) относятся к мицелярным грибам;
г) являются патогенными.

18. По отношению к температуре патогенные грибы являются:
а) психрофилами;
б) мезофиллами;
в) термофилами;
г) все ответы правильные.

Составьте логические пары: вопрос-ответ

19.

1. Условно-патогенные грибы:	А. Trichophyton
2. Дерматофиты:	Б. Род Aspergillus
3. Образуют конидии:	В. Оба
4. Образуют афлотоксины:	Г. Ни то, ни другое.

20.
Укажите соответствие между путём передачи вируса и заболеванием

1. Фекально-оральный	А. Гепатиты В
2. Парентеральный	Б. Полиомиелит
3. воздушно-капельный	В. Гепатиты А
	Г. Краснуха

21.
У каких вирусов обнаружены следующие антигены?
1. HBs –антиген
2. Гемагглютинин
А. Вирус кори
Б. Вирус гепатита В
В. Вирус полиомиелита.

«ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ. ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ»

IVВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. ВИЧ относится к группе вирусов:
а) ДНК-геномных;
б) РНК-геномных;
в) сложных;
г) семейства ортомиксовирусов;

2. Вирусы парагриппа – это:

а) ДНК-содержащие вирусы;
б) простые вирусы;
в) РНК-содержащие вирусы;
г) сложные вирусы.

3. Интерферон обеспечивает противовирусную защиту клетки, т.к. препятствует:
а) репродукции вируса;
б) лизису пораженной клетки;
в) активации киллеров;
г) адсорбции вируса на клетке

4. Неспецифическими факторами защиты организма от гриппа являются:
а) система комплемента;
б) ингибиторы;
в) интерфероны;
г) slgA;

5. Передача ВИЧ-инфекции происходит следующими путями:
а) парентеральным;
б) алиментарным;
в) половым;
г) воздушно-капельным.

6. Для серодиагностики вирусных гепатитов применяют:
а) реакцию торможения гемагглютинации;
б) иммуноферментный анализ;
в) реакцию непрямой (пассивной) гемагглютинации;
г) реакцию гемагглютинации.

7. Возбудителями медленных инфекций могут быть:
а) прионы;
б) вирус клещевого энцефалита;
в) вирус полиомиелита;
е) вирус гриппа.

8. Энтеротропными считаются:
а) вирус полиомиелита;
б) вирус бешенства;
в) вирус гепатита С;
г) вирусы Коксаки и Эхо.

9. Для плановой специфической профилактики гриппа используют:
а) живую вакцину;
б) анатоксин;
в) инактивированную цельновирионную вакцину;
г) антигриппин.

10. Вирус кори по строению:
а) простой вирус;
б) сложный вирус;
в) имеет суперкапсид;
г) не имеет суперкапсид.

11. Вирусы парагриппа относят:
а) к роду Paramyxovirus;
б) к роду Lyssavirus;
в) к роду Pneumovirus;
г) к роду Morbillivirus.

12. Для специфической профилактики полиомиелита используют:

а) БЦЖ;
б) АКДС;
в) живую вакцину, полученную Смородинцевым А.А. и Чумаковым М.П.;
г) антирабическую вакцину.

13. Какой путь передачи гепатитов В, С, Д, G является основным?

а) фекально-оральный;
б) парентеральный;
в) воздушно-капельный;
г) контактный.

14. Какой тип нуклеиновой кислоты содержат вирусы гепатитов А и Е?

а) ДНК;
б) РНК;
в) ДНК и РНК;
г) не содержит нуклеиновую кислоту.

15. Стригущий лишай вызывается грибами рода:

а) Trichophyton;
б) Aspergillus;
в) Candida;
г) Fusarium.

16. К системным, или глубоким микозам относится:

а) Гистоплазмоз;
б) Фавус (парша);
в) Споротрихоз;
г) Микроспория.

17. Что такое конидии?

а) Эндоспоры;
б) Экзоспоры;
в) Спорообразующие структуры;
г) Поперечная перегородка в гифе.

18. Оппортунистические микозы:

а) вызывают патогенные грибы;
б) вызывают условно-патогенные грибы;
в) вызывают неклассифицированные патогенные грибы;
г) вызывают дерматофиты.

Составьте логические пары: вопрос-ответ

19.

1. Кератомикозы:	А. Microsporum
2. Субкутанные микозы:	Б. Возбудитель разноцветного лишая
3. Глубокие микозы:	В. Споротрихоз
4. Эпидермофитии:	Г. Бластомикоз

20. Установите соответствие между типом нуклеиновой кислоты генома и видом вируса гепатита

1-ДНК	А.VGA
2- РНК	Б.VGB
	В.VGC
	Г.VGD
	Д.VGE

21. Какие реакции используют при диагностике

1. Полиомиелита

2. Гепатита В

А. Реакцию нейтрализации цветной пробы

Б. Реакцию непрямой гемагглютинации

В. Обе

Г. Ни то, ни другое .