

№ СТОМ-16

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 –микробиология
полости рта

основной профессиональной образовательной программы высшего образования –
программы специалитета по специальности 31.05.03 Стоматология,
утвержденной 30.03.2022 г.

Составитель: Черткоева Майя Гивиевна

Владикавказ

ПЕРЕЧЕНЬ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ:

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

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

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

**СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК
ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ -
МИКРОБИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА ДЛЯ СТУДЕНТОВ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

Осенний семестр

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в III 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 гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

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

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №1.

Тема: Микроскопический метод исследования. Оборудование и правила работы в бактериологической лаборатории. Световая микроскопия. Иммерсионная система микроскопа. Морфология микробов. Простые и сложные способы окраски препаратов. Особенности структуры эу- и прокариотических клеток.

Учебная цель:

1. Ознакомление с правилами работы в микробиологической лаборатории.
2. Изучить таксономию и классификацию микроорганизмов: морфологические особенности микроорганизмов и простой окраски.
3. Изучить морфологию отдельных представителей бактерий.
4. Освоить технику микроскопирования.
5. 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.
6. Особенность строения бактериальной клетки.
7. Функциональное значение различных компонентов прокариотической клетки.
8. Сложные методы окраски (Грама, Циля-Нельсена, Ожешко, Бурри -Гинса, Нейссера).

Студент должен уметь:

1. Приготовить мазок из чистой культуры, окрасить простым способом.
2. Микроскопировать с иммерсионной системой.
3. Приготовить мазок с чистой культуры бактерий *E. coli*, *S. aureus* и окрасить по методу Грама.
4. Микроскопировать мазок.
5. Уметь приготовить препараты «висячей» и «раздавленной» капли.

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 стафилококка (*Staphylococcus aureus*). Окраска генциан-виолетом.
4. Просмотр демонстрационного мазка из чистой культуры кишечной палочки (*E. coli*). Окраска — водным фуксином.
5. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.

1. Работа в микробиологической лаборатории проводится с заразным материалом, что требует особой дисциплинированности и тщательности в работе.
2. Студент должен находиться в лаборатории в халате и шапочке.
3. Материал для работы принимается дежурным по группе у лаборанта кафедры и раздается студентам только с разрешения преподавателя.
4. При выполнении практических занятий, студенты обязаны выполнять указания преподавателя.
5. Все предметы, которые были в работе, должны быть обеззаражены.
6. Если студент разобьет пробирку с микробами, он обязан сообщить об этом преподавателю и обезвредить рабочее место.
7. Каждый студент получает микроскоп, который закрепляется за ним.
8. Во время выполнения практических занятий на столе не должно быть никаких посторонних предметов.
9. Студенты обязаны привести в порядок свое рабочее место; сдать дежурному материалы и микроскоп; подписать альбом с зарисовками.
10. 10. Вымыть руки после работы.

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, трехкратно 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, получают 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- Streptococcus.

4. При делении в двух взаимно перпендикулярных 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 1 и 2). Особый режим максимально изолированные индивидуальным и общественным риском.

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 трехкратно до появления пара.
2. Затем препарат обесцвечивают 5% раствором серной кислоты, предварительно удалив фильтровальную бумагу.
3. Промывают водой.
4. Докрашивают метиленовым синим в течении 3-5 минут.
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 Нейссера 2-3 мин.
2. Не промывая водой, наносят раствор Люголя 10-30 сек.
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 HCl 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

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.

6. 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.

7. В отличие от эукариотических клеток бактерии имеют:

- а) гаплоидный набор хромосом;
- б) диплоидный набор хромосом;
- в) клеточный центр;
- г) гистоновые белки.

8. 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.
9. Жёсткость структуры бактериальной клетки обеспечивается:
- а) капсулой;
 - б) клеточной стенкой;
 - в) цитоплазматической мембраной;
 - г) жгутиками;
 - д) пиллями.
10. Форма бактерий определяется строением её:
- а) пилей;
 - б) цитоплазматической мембраной;
 - в) клеточной стенкой;
 - г) всех трёх компонентов;
 - д) неизвестно науке.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ № 2.

Тема: Бактериологический метод исследования. Физиология бактерий. Питательные среды. Их классификация, способы приготовления, стерилизация. Техника посевов материала на питательные среды.

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.
4. Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
5. 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.
7. Принципы культивирования микроорганизмов.
8. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
9. Питательные среды, требования, предъявляемые к питательным средам
10. Классификация питательных сред, состав и приготовление.

Студент должен уметь:

1. Оценить эффективность стерилизации и дезинфекции.
2. 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).
7. Методы стерилизации: физические, химические, биологические, механические.
8. Устройство и применение печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
9. Стерилизация различных лекарственных средств в зависимости от их природы, формы, лабильности к физическим факторам.
10. Контроль качества стерилизации.
11. Понятие об асептике, антисептике и дезинфекции.
12. Антисептики и дезинфектанты.
13. Принципы контролирования качества дезинфекции.
14. Демонстрация антисептических и дезинфицирующих средств.

Самостоятельная работа студентов:

1. Посев исследуемого материала по методу Дригальского.
2. Ознакомление с приготовлением питательных сред.
3. Провести и учесть результаты опыта по определению действия высокой температуры (80°C) 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°C в течении 30 минут, а при температуре 70°C 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.	Фильтрация			
8.	Физические факторы (УФЛ, гамма-лучи, ультразвук)			
9.	Газовая стерилизация			
10.	Пастеризация			

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ 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. Среда должна создавать оптимальные условия для жизнедеятельности микробов.

РЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ 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)	Молочно-солевой агар, жел-точно-

	-для стафилококка: -для грам(-) кокков и дифтероидов: -для энтеробактерий: -для холерного вибриона: -для лактобацилл и грибов Дифференциально-диагностические Универсальные Среды обогащения Консервирующие	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

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 дезинфектантов, антисептиков).
- 3. Биологическим** (применение антибиотиков).
- 4. Механическими** (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использования 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, имплантаты, боры, корневые иглы, экскаваторы, зонды, гладилки.	Стерилизация - вирулицидные, спороцидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия. Длительная экспозиция: гамма-лучи, плазма, длительная газовая и химическая стерилизация, автоклавирование (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, туберкулоцидные, 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.

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
6. Какие питательные среды являются простыми?
 - а) среда Эндо;
 - б) МПА;
 - в) кровяной агар;
 - г) МПБ;
 - д) пептонная вода.
7. Плотность питательных сред зависит от содержания в них:
 - а) хлорида натрия;
 - б) пептона;
 - в) агар-агара;
 - г) сахарозы;
 - д) сыворотки крови.
8. 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.

9. 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.

10. 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 № 3.

Тема: Способы выделения и идентификации чистых культур аэробных бактерий. Изучение ферментативной активности, факторов вирулентности и чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Особенности транспортировки материала и выделения чистых культур анаэробных бактерий. Культуральные и патогенные свойства грибов.

Тестовый контроль.

Учебная цель:

- 1. Освоить методы выделения чистых культур аэробов.
- 2. Изучить типы дыхания бактерий, способы создания условий анаэробии. Освоить методы выделения чистых культур анаэробов.
- 3. Изучить грибы - возбудители микозов и микологический метод исследования

Студент должен знать:

- 1. Принципы культивирования микроорганизмов.
- 2. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
- 3. Питательные среды для культивирования анаэробов
- 4. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.

Студент должен уметь:

- 1. Выполнить второй этап выделения чистой культуры аэробных бактерий.

План занятия:

- 1. Типы дыхания бактерий.
- 2. Способы создания условий анаэробии.
- 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.
11. Сдача модуля.

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 микроанаэрозоля. Способы: Фортнера, Вейнберга.
5. Приготовление мазков из дрожжевых грибов, окрасить их простым методом (метиленовой синью) и микроскопировать.
6. Приготовление и микроскопирование нативных препаратов из культур плесневых грибов.
7. 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;
8. Посев материала с пальцев рук на чашку с МПА (метод отпечатков).
9. Посев отделяемого из носа и зева на МПА.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Дыхание бактерий. Классификация бактерий по типу дыхания.

Сущность дыхания у микроорганизмов — 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 aeruginosa*.
2. Облигатные анаэробы — микроорганизмы, которые растут и размножаются только без доступа кислорода. Например: *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*.
3. Факультативные анаэробы — микроорганизмы, которые могут расти и размножаться как в присутствии кислорода, так и в бескислородных условиях. Например: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*.
4. Микроаэрофилы бактерии — микроорганизмы, 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) механический — удаление (откачивание) воздуха из анаэрозоля с помощью вакуумного отсоса. Затем анаэрозоль заполняют газовой смесью, которая состоит из 80% азота, 10% водорода и 10% углекислого газа;

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

в) биологический (метод Фортнера) — совместное культивирование анаэробов и аэробов. При этом на одну чашку Петри с плотной питательной средой (чаще используют

среду Цейссlera) 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). Среда перед посевом регенерируют (кипятят на водяной бане в течение 15 минут) 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 (метод разведений)

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°C 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 Цейссlera секторами с последующим культивированием в анаэроостате.

Грибы (Fungi, Mycetes) — разнородная группа эукариотических микроорганизмов. Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цитоплазматическую 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 бесполом способами, а также вегетативным путем (почкование или фрагментация гиф). Грибы, размножающиеся половым и бесполом 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 ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ

Укажите все правильные ответы:

1. Для культивирования анаэробов без анаэроstats используется среда:

- а) кровяной агар;
- б) желточно-солевой агар;
- в) Эндо;
- г) Китта-Тароцци;
- д) Клауберга.

2. При анаэробном типе дыхания 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 № 4.

Тема: Бактериофаг. Генетика бактерий. Молекулярно-генетический метод диагностики. Строение и репродукция бактериофагов. Их медицинское значение. Наследственность и изменчивость у бактерий. Полимеразная цепная реакция и её применение..

Учебная цель:

- 1. Изучить строение и морфологию бактериофагов.
- 2. Изучить наследственность и изменчивость у бактерий.

Студент должен знать:

- 1. Морфологию, ультраструктуру, классификацию бактериофагов.

Студент должен уметь:

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

План занятия:

- 1. Морфология и строение бактериофагов, их практическое применение в медицине.
- 2. Виды наследственности бактерий.

Самостоятельная работа студентов:

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

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

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, лимонovidные 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»-Vіra. 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.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Что такое бактериофаги?
 - а) бактерии;
 - б) вирусы;
 - в) клетки фагоциты;
 - г) грибы.
2. Какие микробы не имеют клеточного строения?
 - а) вирусы;
 - б) микоплазмы;
 - в) хламидии;

- г) грибы.
3. Что содержит сложно организованный вирус?
- а) два типа нуклеиновой кислоты;
 - б) один тип нуклеиновой кислоты (либо ДНК, либо РНК);
 - в) суперкапсид;
 - г) капсид
4. Вирусы открыл:
- а) Л. Пастер;
 - б) Р. Кох;
 - в) И. Ивановский;
 - г) И. Мечников.
5. Внеклеточная форма существования вирусов
- а) вирион;
 - б) капсид;
 - в) капсомер;
 - г) суперкапсид;
 - д) элементарные тельца.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5.

Тема: Современные методы диагностики в вирусологии. Понятие о строении вирусов, вирионов и прионов. Методы диагностики.

Учебная цель:

1. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
2. Изучить методы диагностики вирусов.

Студент должен знать:

1. Морфологию, ультраструктуру, классификацию вирусов.

Студент должен уметь:

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

План занятия:

1. Особенности биологии вирусов.
2. Принципы классификации вирусов.
3. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.

Самостоятельная работа студентов:

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

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ 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 м до 300-400 м.
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 м, могут быть окрашены по Романовскому - Гимзе; вирусы меньших размеров (вирусы оспы) удастся обнаружить только при помощи особых способов обработки.

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 вирусосодержащего 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 гроздьсообразования (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 гемагглютинины - 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;
в) По 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).

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6.

Тема: Симбиоз и антибиоз. Резидентная и патогенная микрофлора. Факторы вирулентности микробов. Синергизм и антагонизм у микробов. Антибиотики, механизм действия и методы определения чувствительности к антибиотикам.
Тестовый контроль.

Учебная цель:

1. Изучить этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
2. Изучить механизм действия антибиотиков на микробную клетку.
3. Изучить методику определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

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

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.
3. Описать результаты чувствительности чистой культуры к антибиотикам.
4. Определить чувствительность бактерий к антибиотикам методом индикаторных дисков.

План занятия:

1. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
2. Условия формирования ассоциации резидентов.
3. Отличия патогенов от резидентов.
4. Антибиотики, определение, классификация по химической структуре, спектру, типам и механизму действия.
5. Химиотерапевтические препараты, механизм их действия на микробную клетку.
6. Механизмы лекарственной устойчивости бактерий.
7. Побочное действие антибиотиков и синтетических противомикробных лекарственных средств.
8. Методы и единицы измерения антимикробной активности.
9. Противовирусные химиотерапевтические препараты.
10. Демонстрация антибиотиков с различным механизмом и спектром действия.
11. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

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

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 транзитную микрофлору. *Постоянная* микрофлора представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в организме. *Транзитная* 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 экзополисахаридноматрикс, образуя биологическую пленку, устойчивую к различным воздействиям.

Протокол исследования

№	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

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-лактамов. 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-лактамов. 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-лактамов различен: бактериостатический, бактерицидный, литический.

Кроме бета-лактамов, синтез клеточной стенки поражают такие антибиотики, как бацитрацин, фосфомицин, циклосерин, ванкомицин, ристомин, 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 70S. Хотя бактериальные рибосомы 70S имеют такую же в принципе структуру, как рибосомы 80S эукариотных клеток, их белки и белковые факторы, участвующие в работе белоксинтезирующей системы, отличаются от таковых рибосом 80S. 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 70S. 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 посеян 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) цефалоспорины
- 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 № 7.

Тема: Серологический метод диагностики. Механизмы неспецифической резистентности человека. Фагоцитоз, система комплемента, лизоцим и т.д. Антигены и антитела. Серологические реакции: агглютинация, преципитация, лизис, гемолиз и связывания комплемента. Иммунофлюоресцентный, иммуноферментный и радиоиммунный анализ в диагностике инфекционных болезней.

Учебная цель:

1. Изучить физиологические механизмы иммунитета.
2. Изучить серологические методы лабораторной диагностики.
3. Изучить комплементзависимые серологические реакции,
4. Изучить реакции иммунитета с мечеными компонентами.

Студент должен знать:

1. Постановку реакции агглютинации (развернутая).
2. Постановку реакции преципитации, практическое применение.
3. Получение диагностических сывороток, классификацию.
4. Постановку реакции иммунного лизиса.
5. Постановку реакции связывания комплемента (РСК).
6. Постановку реакции иммунитета с мечеными компонентами.

Студент должен уметь:

1. Поставить ориентировочную реакцию агглютинации на предметном стекле.
2. Поставить развернутую реакцию агглютинации.
3. Поставить реакцию кольцепреципитации.
4. Поставить реакцию иммунного лизиса.
5. Поставить реакцию связывания комплемента (РСК).
6. Поставить реакцию иммунитета с мечеными компонентами.

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.
12. Реакции иммунного лизиса, компоненты.
13. Реакция гемолиза.
14. Реакция связывания комплемента (РСК). Постановка и учет реакции связывания комплемента.
15. Реакция иммунофлюоресценции, прямая и непрямая.
16. Иммуноферментный анализ, компоненты, применение.
17. Радиоиммунный анализ, компоненты, применение.

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

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 sensibilizированных 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 иммунокомпетентными 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 — плазм-моцитами. В соответствии с Международной классификации у-глобулины, несущие функции антител, получили название иммуноглобулинов и обозначаются символом Ig. 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: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Иммуноглобулины M, G, A имеют подклассы. Например, IgG имеет четыре подкласса (IgG1, 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 ареактивность, 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 $t\ 37^{\circ}\text{C}$ на 2 часа. После выдержки в термостате штатив с реакцией выдерживают при комнатной температуре или «на холоду» ($+3^{\circ}$ $+5^{\circ}\text{C}$) в течение 18 часов.

Компоненты реакции	Опыт					сыворотки	диагностик
	1	2	3	4	5	6	ума 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 насаивания 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 «фаскрытого зонтика».

Исследуемую сыворотку больного разводят в 10 раз и прогревают при 65°C 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°C 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° C; 24 часа.									
Учет результатов									

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
3. Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4. Физиологический раствор	-	0,5	0,5
Инкубация при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ — 40 минут.			
5. Гемолитическая система (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка)	1,0	1,0	1,0

Инкубация при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ — 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

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 (флокулята) или кольца преципитации.
6. Разновидностями реакции иммунного лизиса являются:
- а) гемагглютинация;
 - б) гемолиз;
 - в) кольцепреципитация;
 - г) бактериолиз;
 - д) цитолиз
7. 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.
8. При постановке иммуноферментного анализа антитела или антигены метят:
- а) пероксидазой;
 - б) флюорохромом;
 - в) радиоизотопом;
 - г) комплементом.
9. Наиболее современными серологическими реакциями являются:
- а) реакция агглютинации;
 - б) реакция связывания комплемента;
 - в) иммуноферментный анализ;
 - г) полимеразная цепная реакция;
 - д) реакция иммунофлюоресценции.
10. 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 № 8.

Тема: Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция. Методы оценки иммунного статуса человека: проточная цитофлуориметрия с моноклональными CD-антителами, хемилюминесценция лейкоцитов, бласттрансформация лимфоцитов и др. Иммунобиологические препараты: вакцины, анатоксины, сыворотки. Иммуномодуляторы. Пробиотики.

Учебная цель:

1. Изучить тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.
2. Изучить патогенез вторичных иммунодефицитов
3. Изучить генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
4. Изучить врожденные иммунодефициты
5. Постановить и учесть функциональное состояние фагоцитов,
6. Определить активность комплемента крови

Студент должен знать:

1. Возрастные особенности иммунного статуса.
2. Методы исследования лимфоцитов, оценку функционального состояния фагоцитов,
4. Генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
5. Вторичную иммунологическую недостаточность (ВИН) – классификацию, этиологию, диагностику

Студент должен уметь:

1. Постановить и учесть функциональное состояние фагоцитов,
2. Определить активность комплемента крови
3. Оценить и интерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности

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
5. Тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.
6. Генетика иммунодефицитов, особенности наследования.
7. Врожденные иммунодефициты (классификация, диагностика)
8. Врожденные иммунодефициты у детей.
9. Вторичная иммунологическая недостаточность (ВИН) – классификация, этиология, диагностика

Самостоятельная работа студентов:

1. Постановка и учет функционального состояния фагоцитов,
2. Определение комплемента
3. Оценить и интерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности по готовым иммунограммам

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 созревают 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 C2 и C4 синтезируются макрофагами, C5 и C4 — в печени, лёгких, перитонеальных клетках, C3 и C1 — 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-фетопротеин, а-2-глобулин. Резко ограничено в этот период влияние на В-клетки Т-лимфоцитов и макрофагов.

Преждевременная активация иммунной системы наблюдается при внутриутробном инфицировании. Практически всегда это сопровождается 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 беременности. Способность плода образовывать компоненты системы комплемента неполноценна. В III триместре её уровень хотя и возрастает, 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 изогемагглютинидами, 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, достигающий 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 реактина 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 количества. Плазматические 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 тракта, 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 Ag.

Местный иммунитет обуславливается 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 малой 12 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 годовалого 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 иммуностропных 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 стартовых 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 период новорожденное™, 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 тимocyты 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 реакций сохраняется при 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 IgG4 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 атопических, 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 иммунного 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 новорожденных 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 новорожденных. 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 ребенка 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%. Подъём 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. 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 к-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-рецессивная
дефицит аденозиндезаминазы
дефицит пурипнуклеозидфосфорилазы
дефицит молекул II класса МНС (синдром лысых лимфоцитов)
ретикулярная дизгенезия
дефицит CD3 γ или CD3 ϵ
дефицит CD8 лимфоцитов
недостаточность системы комплемента
дефекты фагоцитоза
наследственные нейтропении
инfantильный летальный агранулоцитоз (болезнь Костмана)
циклическая нейтропения
семейная доброкачественная нейтропения
дефекты фагоцитарной функции
хроническая гранулематозная болезнь
Х-сцепленная
аутосомно-рецессивная
дефицит адгезии лимфоцитов I типа
дефицит адгезии лейкоцитов 2 типа
дефицит глюкозо-6-дегидрогеназы 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 I 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

- витамиотерапию

- 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 сенсibilизация 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 из которых является иммуноглобулинами и другими компонентами иммунной системы (белки системы комплемента, 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 проходящий 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.

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 ПРОТИВПОКАЗАНО

бутадион
бруфен
энтеросептол (+)

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9.

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

- 1. стафило-, энтеро- и стрептококки (бактериологический метод)**
- 2. нейссерии и микоплазмы (микроскопический метод)**

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

1. Изучить биологические свойства стафилококков.
2. Изучить методы микробиологической диагностики стафилококковых, стрептококковых заболеваний.
3. Изучить морфологические и культуральные свойства патогенных грамположительных и грамотрицательных стрепто- и диплококков (нейссерий).
4. Освоить основные методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых патогенными диплококками.

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.

6. Морфологические, культуральные и биохимические признаки диплококков;

7. Факторы патогенности, антигенную структуру;

8. Чувствительность к антибиотикам;

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

10. Профилактика и лечение гонококковых 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.

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

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

ПЛАН 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.
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:

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 целью 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. Изучение морфологии пневмококков (*Str. pneumoniae*) в мазках-отпечатках из органов белой мыши, зараженной внутрибрюшинной мокротой больного пневмонией. Окраска по Граму (таблица).
6. Изучение биохимической активности пневмококков с целью дифференциации их от стрептококков. Посев на среды с инулином и желчью.
7. Микроскопический метод диагностики острой гонореи: микроскопия мазка гнойного отделяемого уретры больного острой гонореей. Окраска метиленовым синим.
8. Серологический метод диагностики хронической гонореи: оценить демонстрационную реакцию связывания комплемента (по Борде-Жангу), поставленную с целью обнаружения антител в сыворотке больного гонореей.
9. 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 колоний. 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 Андрее - 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 неспецифически связывает Fc- фрагмент IqQ что приводит к угнетению фагоцитоза, функции комплемента и опсонизирующего действия антител.
3.Эклипсные антигены, имеющие антигенную общность с клетками кожи и почек человека.

1. 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 их гибели;
- β-лактамазы разрушает β-лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины).

5. Экзотоксины:

- гемолизины 4-х типов, в основном обладающих гемолитическим и цитотоксическим действием;
- лейкоцидин разрушает лейкоциты;
- эксфолиатины вызывают повреждение и отсложку 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 гемолизина, 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 конъюнктивы
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 негемолитическим.

Биохимические свойства. При идентификации стрептококков учитывают их способность ферментировать углеводы, расти на средах с желчью, а также на средах с высокой концентрацией NaCl 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.pyogenes* (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 эпидемиологически значимым для человека является вид *S.pyogenes*, 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	Среди лейкоцитов видны Гр + кокки, расположенные небольшими гроздьями, а также по одиночке и попарно. Рост колоний средних размеров с помутнением вокруг колоний и радужным венчиком
	Посев гоня в чашки с желчно-солевым агаром	
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 чувствительности к антибиотикам методом бумажных дисков.	
4-ый	Заключение по проведенному исследованию	Выделена культура патогенного стафилоккокка. 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 обусловлено 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 обуславливают 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.) обуславливают 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 гиперемизованном 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.

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 зелениющих (*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 грамтрицательные 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 по опытной пробирке.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ К ТЕМЕ:

Менингококки (*Neisseria meningitidis*)- 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 meningitidis* имеет родовые антигены общие для всех видов. Внутри вида по капсульным полисахаридным антигенам различают серогруппы *N meningitidis*-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 ориентировочный. В мазках из нативного материала с окраской по Грамму выделяется внутриклеточное расположение бактерий и характерная картина незавершенного фагоцитоза менингококков.

Специфическая профилактика менингококковой инфекции проводится 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 гонококков:

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 класса обуславливает к бактерицидным факторам;

5. Поверхностный белок 2 класса образует отдельную белковую фракцию называемые протеинами мутности или Ора – 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 антисыворотками. Пневмококки неподвижны, спор не образуют; факультативные анаэробы. При культивировании 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 глюкозы 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.

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 какие 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 ϵ - токсин?

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

Вопросы для самоконтроля:

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 № 10.

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

1. **коринебактерии, актиномицеты, листерии (микроскопический и бактериологический методы)**
2. **анаэробные бактерии (микроскопический, бактериологический методы)**

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша.
2. Изучит лабораторную диагностику актиномицет.
3. Изучить современные методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых анаэробами.
4. Изучить препараты для специфической профилактики и терапии анаэробных заболеваний.

Студент должен знать:

1. Биологические свойства и лабораторную диагностику дифтерии, коклюша.
2. Специфическую профилактику дифтерии, коклюша.
3. Особенности морфологии, тинкториальные и культуральные свойства, биохимическую активность.
4. Факторы патогенности: токсины и значение их в патогенезе анаэробных инфекций.
5. Распространение, источник инфекции, пути передачи заболевания вызываемые у человека.
6. Микробиологическая диагностика: бактериоскопический, бактериологический метод, биопробы.
7. Специфическая профилактика и лечение.

Студент должен уметь:

1. Приготовить мазок и окрасить по методу Нейссера.
2. Приготовить мазок и окрасить по методу Грама.
3. Определить токсигенность дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Поставить пробу на цистиназу и пробу на уреазу дифтерийных и ложно -дифтерийных палочек.
5. Проводить бактериологические исследования чистой культуры (по схеме).
6. Приготовить мазок и окрасить по Граму.
7. Микроскопия мазка.
8. Провести учет результатов.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.

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

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Приготовление 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.
5. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены: изучение мазка-отпечатка из гнойной раны, окраска по Граму.
6. 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 AP1-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, ТАВте.
9. Описание препаратов для специфической терапии клостридиальной анаэробной инфекции: поливалентная противогангренозная сыворотка, антитоксическая противостолбнячная сыворотка, антитоксические моноклональные и поливалентные противоботулинические сыворотки.
10. Оформление протокола исследования.

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 ($1-8 \times 0,3-0,8$ мкм) прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метакрохроматические зёрна волютинина, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютинина 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, обуславливающее 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 фибриновой пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многослойным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибриновая 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 B 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 демиелинизацией 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 (whooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракклюш - 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 обуславливает 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 паракклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракклюша 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 сенсibilизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обуславливает 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 противокклюшные 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 удастся. 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.

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 анаэроостате: 80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂) 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 анаэроостате) 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 мяса 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 *Clostridium perfringens*.

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

Культуральные свойства. На плотных средах *C. Perfringens* типа А образует S и R – колонии круглые. S- колонии куполообразные, 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.

Clostridium perfringens 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 отличаются высокой устойчивостью 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, вызываемых 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.

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 № 11

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

1. возбудители кишечных инфекций (бактериологический, серологический методы)
2. возбудители ИППП (серологический, молекулярно-биологический методы)

Учебная цель: 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 интерпретацию результата экспресс-диагностики холеры.
2. Провести бактериологическую диагностику дизентерии: сделать посев на дифференциально-диагностическую среду Плоскирева.

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.
5. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей брюшного тифа, сальмонеллез.
6. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
7. Принципы микробиологической диагностики брюшного тифа, сальмонеллез.
8. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики брюшного тифа, сальмонеллез.
9. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей шигеллеза, холеры.
10. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
11. Принципы микробиологической диагностики шигеллеза, холеры.
12. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики шигеллеза, холеры.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

1. Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).
2. Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
3. Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).
4. Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
5. Оформление протокола исследования.
6. Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
7. Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
8. Учет результатов реакции Видаля.
9. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
10. Учет результатов посева на дифференциально-диагностической среде Плоскирева (макро- и микроскопическое 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, шигеллез, сальмонеллез 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 высевает на среду Ресселя. Состав среды Ресселя: МПА, 1 % лактозы, 0.1 % глюкозы и индикатор Андрее.

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°C) на сутки (18-24 ч.).

Одновременно для изучения протеолитической активности культуры лактозонегативные колонии высевает в пробирку с МПБ с индикаторными бумажками, пропитанными ацетатом свинца и щавелевой кислотой для определения образования сероводорода и индола. Пробирку помещают в термостат (37°C, 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 *Escherichia*, роду *Escherichia*, семейству *Enterobacteriaceae*, 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, неправомерен 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, хорошо растет на обычных питательных средах при низких температурах. 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 бактериологический 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.

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 мечеными 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. Основным источником 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.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Из испражнений больного выделен гр-, подвижный вибрион, агглютинирующийся 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? Ваша лабораторная тактика?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12.

ТЕСТОВЫЙ КОНТРОЛЬ.

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

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

**СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК
ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ -
МИКРОБИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА ДЛЯ СТУДЕНТОВ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

ВЕСЕННИЙ СЕМЕСТР

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь студентам к каждому практическому занятию в IV семестре. Указания составлены в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом Высшего и профессионального образования (2011г.)

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 гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

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

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1.

Тема: Микробиологическая диагностика вирусных болезней. Индикация и идентификация вирусов в исследуемом материале. Серологический метод диагностики вирусных болезней: реакции нейтрализации, пассивной гемагглютинации, ИФА. Отработка методов диагностики на примере вирусных болезней:

**-культивирование в курином эмбрионе, цветная проба, гемагглютинация и торможение гемагглютинации при идентификации вирусов гриппа и ОРВИ;
-серологические реакции и полимеразо-цепная реакция при диагностике вирусных гепатитов В, С, герпеса, ВИЧ.**

Учебная цель:

1. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
2. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.
3. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С, герпеса, ВИЧ- инфекции.

Студент должен знать:

1. Морфологию, ультраструктуру, классификацию вирусов.
2. Морфологию, ультраструктуру, классификацию бактериофагов.
3. Биологические свойства и лабораторную диагностику гриппа, ОРВИ.
4. Специфическую профилактику гриппа, ОРВИ.
5. Биологические свойства и лабораторную диагностику гепатитов В,С,Д,Е, ВИЧ-инфекции.
6. Специфическую профилактику гепатитов В,С,Д,Е, ВИЧ- инфекции.
7. Биологические свойства и лабораторную диагностику герпеса

Студент должен уметь:

1. Обнаруживать вирусные включения методом световой микроскопии.
2. Обнаруживать вирусные включения методом люминисцентной микроскопии.
3. Поставить и учесть результаты РИФ при ОРВИ.
4. Поставить и учесть результаты РТГА для сероидентификации при гриппе.
5. Поставить и учесть результаты ИФА для серодиагностики при ОРВИ.
6. Поставить и учесть результаты реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С,Д,Е, ВИЧ- инфекции.
7. Поставить и учесть результаты РПГА при гепатите В.
8. Поставить и учесть результаты РТГА и ИФА для серодиагностики при герпесе.

План занятия:

1. Особенности биологии вирусов.
2. Принципы классификации вирусов.
3. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.
4. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гриппа, ОРВИ.
5. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний
6. Принципы микробиологической диагностики гриппа, ОРВИ.
7. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.
8. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В, С, ВИЧ-инфекции, герпеса
9. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.

10. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В, С, ВИЧ- инфекции, герпеса.
11. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С, ВИЧ- инфекции, герпеса.

Самостоятельная работа студентов:

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).
4. Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
5. Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
6. Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики (демонстрация).

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ 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 нм до 300-400 нм.
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 нм, могут быть окрашены по Романовскому - Гимзе; вирусы меньших размеров (вирусы оспы) удастся 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 специфических 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, лимбовидные 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.

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 вирусосодержащего 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 гроздьобразования (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 гемагглютинины - РГА+(зонтик), если нет - РГА - (пуговка).

Реакция гемадсорбции. Механизм сходен с РГА.

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 *Orthomyxoviridae*, 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 NA (H1,H2,H3) и два подтипа NA (N1, N2). Вирусы гриппа A и B содержат NA и NA 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 пребывании 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 вирусемию, 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.

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°C инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°C около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°C в течение 60 минут, прогревании при 60°C 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 неперенным 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 (НДВ) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. НДВ 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). НДВ 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 НДВ. Поэтому НДВ - инфекция протекает всегда вместе с HBV- инфекцией. НДВ располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. НДВ- инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции НДВ в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к НДВ 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 НДВ 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 (то есть не имеющие антиНВs), а также носители НВ- вируса (здоровые носители НВsAg 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 НВs- антигемии: 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 НВV + НДV у лиц, не болевших ранее НВV - инфекцией (не имеющих до инфицирования маркеров НВV - инфекции). В этом случае развивается острый ВГВ+ВГД- гепатит с появлением серологических маркеров сразу двух острых инфекций. При коинфекции репликация НВV чаще всего ВГВ+ВГД - гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции НДV - инфекция наслаивается на текущую НВV- инфекцию у здоровых носителей НВsAg, 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 НВsAg, 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 НВsAg 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 технологии 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 маркеров 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 ней.

Герпес (греч. ἑρπης — 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°C , тогда как при температуре -20°C он быстро инактивируется. Вирусосодержащие ткани могут быть сохранены более 6 месяцев при 4°C , 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 меченого 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 гемагглютинации 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. 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.
5. ВИЧ относится к группе вирусов:
 - а) ДНК-геномных;
 - б) РНК-геномных;
 - в) сложных.
6. Семейство ретровирусов отличается наличием
 - а) РНК-полимеразы
 - б) ДНК-полимеразы
 - в) эндонуклеазы
 - г) обратной транскриптазы
 - д) экзонуклеазы
7. Какой тип нуклеиновой кислоты содержит вирус гепатита В?
 - а) РНК
 - б) ДНК
 - в) ДНК и РНК
8. 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.
9. 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 № 2.

Тема: Инфекционный контроль в стоматологии. Дезинфекция, предстерилизационная обработка и стерилизация инструментов, материалов, оборудования. Антисептики и дезинфектанты. Способы забора материала для исследования из полости рта (для микробиологических исследований). Современные методы клинической иммунологии и молекулярной генетики.

Учебная цель:

1. Изучить особенности забора исследуемого материала из полости рта для проведения различных методов микробиологического диагноза.
2. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.

Студент должен знать:

1. Методику проведения забора исследуемого материала из полости рта.
2. Методику проведения различных методов микробиологической диагностики.

Студент должен уметь:

1. Приготовить мазок и окрасить его по Грамму.
2. Провести бактериологическое исследование при стоматологических заболеваниях.

План занятия:

1. Особенности забора исследуемого материала из полости рта (ротовая жидкость, зубная бляшка, содержимое десневого желобка, пародонтального кармана, кариозной полости, корневых каналов и др.).

Самостоятельная работа студентов:

1. Изучить особенности забора исследуемого материала из полости рта.
2. Оформить протоколы исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

1. Зарисовать в протокол схему забора исследуемого материала при осложнениях кариеса зубов и пародонтита.
2. Используя справочную литературу и рисунок "Микробиоценоз полости рта", зарисовать представителей резидентной микрофлоры полости рта при окраске по Граму.
3. Результаты внести в протокол.

Таблица. Забор исследуемого материала из содержимого парадонтального кармана

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА

коринебактерии

лактобактерии

Актиномицеты

спирохеты

Strept.mutans

лактобактерии

пептострептококки

анаэровибрио

анаэробоспириллы

нейсерии

лептотрихии

грибы кандиды

трихомонады

фузобактерии

амёбы

бактероиды

бактероиды

фузобактерии

вейлонеллы

анаэробовибрио

анаэробоспириллы

спирохеты

Обозначения:

1- зубной налёт

2- иккотрешины и каналцы эмали зуба

3- десневой желобок

4- лакуны слизистой оболочки полости рта

1-2. Мазок из зубного налёта или соскоб со слизистой готовят на предметном стекле. Забор материала можно производить стерильным шпателем, гладилкой, спичкой. Взятый материал из межзубных промежутков или у шейки зуба наносят на предметное стекло рядом с каплей воды и растирают посуху, а затем вносят петлёй воду, постепенно готовя однородную взвесь и равномерно распределяя её по поверхности стекла. Мазок высушивают на воздухе, фиксируют в пламени горелки и окрашивают по Граму. При микроскопии под иммерсией изучают морфологические особенности и отношение к окраске по Граму представителей нормальной микрофлоры биотопов зубного налёта и слизистой языка.

3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала зубной бляшки

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

СХЕМА ФОРМИРОВАНИЯ ЗУБНОГО НАЛЕТА (БЛЯШКИ).



2. Микроскопическое исследование демонстрационных мазков чистых культур бактерий, выделенных из полости рта (лактобактерий, пептококков, бактероидов).

3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала из коневых каналов.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ:

1) При стерилизации наиболее быстро разрушаются следующие виды химических связей в пептидогликане бактериальной клеточной стенки:

- а) пептидные
- б) гликозидные
- в) водородные
- г) ковалентные

2) Вещества, которые вызывают задержку размножения и гибель микроорганизмов в ничтожно малых концентрациях называются:

- а) антибиотиками
- б) антисептиками
- в) дезинфектантами
- г) консервантами

- 3) Комплекс мероприятий, направленных на уничтожение на/в объектах патогенных микробов называется
- а) асептика
 - б) антисептика
 - в) дезинфекция
 - г) стерилизация
 - д) тиндализация
- 4) Пастеризацию с последующим быстрым охлаждением проводят в следующем режиме:
- а) при t 100С в течении 30 секунд
 - б) при t 65-95С в течении 2-30 минут
 - в) при t 35-55С в течении 60 минут
 - г) все ответы верны
- 5) Если средство обладает моющим и антимикробным свойствами, то:
- а) допускается совмещение дезинфекции и предстерилизационной отчистки
 - б) дезинфекция и предстерилизационная отчистка должны проводиться раздельно
 - в) данное средство может использоваться только для очистки
 - г) данное средство может использоваться только для дезинфекции

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3.

Тема: Стерилизация и дезинфекция. Способы стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды и лечебного инструментария. Особенности стерилизации и предстерилизационной обработки стоматологических инструментов, боров, наконечников турбин и т.п.

Учебная цель:

1. Ознакомиться с современными методами стерилизации и дезинфекции в стоматологии.
2. Ознакомиться с перечнем современных дезинфицирующих и антисептических препаратов.
3. Изучить правила предосторожности от заражения инфекционными заболеваниями на приеме у стоматолога.

Студент должен знать:

1. Методику проведения современных методов стерилизации в стоматологии.
2. Методику проведения современных методов дезинфекции в стоматологии.
3. Правила предосторожности от заражения инфекционными заболеваниями на приеме у стоматолога.

Студент должен уметь:

1. Проведение микроскопического исследования (по схеме) при диагностике стоматологических заболеваний.
2. Проведение бактериологического исследования (по схеме) при диагностике стоматологических заболеваний.
3. Проведение серологического исследования (по схеме) при диагностике стоматологических заболеваний.

План занятия:

1. Особенности микроскопического, бактериологического и серологического методов исследования при диагностике стоматологических заболеваний.
2. Современные методы стерилизации и дезинфекции в стоматологии (ультразвук, УФ-гамма-лучи, лазер)
3. Правила предосторожности от заражения инфекционными заболеваниями на приеме у стоматолога.
4. Инструкции и нормативные документы по дезинфекции и стерилизации в стоматологии.

Самостоятельная работа студентов:

1. Изучить инструкции и нормативные документы по дезинфекции и стерилизации в стоматологии.
2. Проработать методические рекомендации к занятию и заполнить таблицу.

3. Таблица

4. Характеристика методов стерилизации в стоматологии

5.

	Метод	Аппарат	Режим	Надёжность и показания	Объекты стерилизации
1.	Паром под давлением				
2.	Сухим жаром				
3.	Газовая стерилизация.				
4.	Химическая стерилизация.				
5.	Ультразвуком.				
6.	Уф и гамма-лучами				
7.	Лазером				

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

В стоматологии больше, чем в других областях медицины, необходимо строгое соблюдение правил асептики и антисептики, так как любое стоматологическое вмешательство производится на инфицированных тканях. Не только удаление кариозного зуба или обработка корневого канала, но и простой осмотр полости рта больного связаны с инфицированием используемых для этих целей инструментов, чтобы исключить перенос микробов от одного больного в полость рта другого, а также предотвратить инфицирование здоровых тканей, допустима работа только стерильным инструментом. Обеспечение стерильным перевязочным материалом и инструментом - задача сестры, которую должен контролировать врач.

I. ОБРАБОТКА ПОМЕЩЕНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО КАБИНЕТА

1. Следить в кабинете за температурой и влажностью, использовать воздушные фильтры.

2. Перед приемом больных необходимо провести влажную уборку с использованием различных дезинфицирующих средств. Протирать 2-р. салфеткой с интервалом в 15 минут дезинфицирующими растворами (3 % хлорамина, 6 % перекиси водорода, 70 град. спиртом и др.) поверхности всех предметов с целью уничтожения вегетативных форм бактерий.

3. Затем необходимо включить ультрафиолетовую установку для уничтожения находящихся в воздухе и на поверхности бактерий. (Расчет бактерицидной лампы в 2.5 вт на 1 куб.м в течение 1 часа)

II. ДЕЗИНФЕКЦИЯ, СТЕРИЛИЗАЦИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ КАБИНЕТЕ

1. Дезинфекции должны подвергаться все изделия, не имеющие контакта с раневой поверхностью, кровью или инъекционными препаратами (используются растворы 6 % перекиси водорода, 3 % хлорамина, 70⁰ спирта и др.)

2. Стерилизация - это полное обеспложивание материала. Стерилизации должны подвергаться все предметы, соприкасающиеся с раневой поверхностью, кон активирующие с кровью, и отдельные виды медицинских инструментов, которые в процессе работы соприкасаются со слизистой оболочкой и могут вызвать ее повреждение.

3. Перед стерилизацией необходимо замочить в моющем растворе на 40-50 минут весь инструмент, боры, а затем очистить их от белковых, жировых, механических загрязнений и лекарственных препаратов. Очистка должна производиться струйным, ротационным методами, ершеванием или с применением ультразвуковых ванночек, в которые помещают 6 % раствор перекиси водорода и моющее вещество (порошок "Лотос", "Прогресс" и др.).

4. В зависимости от стерилизуемого материала можно использовать термические, химические и газовые методы стерилизации. Предпочтение следует отдавать термическим методам, как более надежным.

Однако изделия из резины, полимеров, оптическая техника, некоторый инструмент, аппараты сердце-легкие, искусственная почка не выдерживают термической обработки.

5. Стерилизация паром под давлением осуществляется в автоклавах. Режим стерилизации позволяет уничтожить не только бактерии, споры, но и такие вирусы, как вирус гепатита Б (сывороточный гепатит) и ВИЧ. Давление 2 атм. (температура 132 град.) в течение 1 часа. Стерилизацию проводят в стерилизационных коробках, биксах, мешках из влагопрочной бумаги с маркировкой. Этот метод рекомендуется для изделий из

коррозиестойкого металла, стеклянных шприцев, резины, текстильных материалов, некоторых полимеров.

6. Некоторый инструмент (особенно режущий) рекомендуется стерилизовать в гласс-перленовом стерилизаторе при температуре 240 град. в течение 5-10 секунд.

7. Стерилизация сухим жаром в сухожаровых печах проводится при температуре 180 град. в течение 150 минут (2.5 часа). Длительность воздействия также позволяет уничтожить вирусы гепатит Е и ВИЧ. Стерилизации подвергают сухие изделия в упаковке из бумаги (срок хранения 20 дней). Стерилизовать можно и без упаковки, но тогда изделия должны быть использованы непосредственно после стерилизации.

8. Химический метод стерилизации заключается в том, что изделия погружаются в раствор 6 % перекиси водорода на 6 часов или

в камеру с парами 40 % формальдегида в этиловом спирте на несколько часов, что зависит от стерилизуемого материала.

9. В последнее время, в связи с появлением новой аппаратуры, стал более широко применяться газовый метод стерилизации. Он осуществляется в специальных камерах или настольных газовых стерилизаторах, где находится окись этилена или смесь этилена с бромистым метилом, Стерилизация идет при температуре от 35 град. до 42 град, в течение нескольких часов или дней в специальных пакетах с маркировкой:

а) если контакт с кровью, тканями был меньше 30 мин., то металлические изделия стерилизуют в течение 4-х часов, изделия из резины, пластмасс - 24 часа.

б) если контакт с кровью, тканями был больше 30 мин., то металлические изделия стерилизуют в течение 24 часов, изделия из резины, пластмасс - одну неделю, аппарат легкие-сердце-почка в течение 2-х недель.

Такая длительная стерилизация связана с профилактикой ВИЧ и гепатита Б.

10. С целью профилактики сывороточного гепатита Б и ВИЧ рекомендуется использовать предметы одноразового пользования (шприцы, инъекционные иглы, системы для переливания крови и др.)

Инструкция по технике безопасности при работе с биоматериалом, потенциально инфицированным ВИЧ

I. Общие положения.

СПИД - заболевание со смертельным исходом, развивающееся в результате нарушения функций иммунной системы. Инкубационный период заболевания - 5-10 лет. Случаев спонтанного выздоровления или излечения от СПИД не отмечено. Возбудители - Т-лимфотропные ретровирусы HTLV-3 (HIV-1) и HTLV-4 (HIV-2). Пути передачи - с кровью (клетки, сыворотка), половой, от матери к детям с грудным молоком. Вирусы нестойки - погибают после 30-минутной экспозиции в 20% растворе этилового спирта. Поэтому все меры, предусмотренные для предотвращения заражения вирусами гепатита, достаточны и для защиты от инфекции вирусами СПИД. При работе с инфекционным материалом необходимо соблюдать три основных правила: менять халат, работать в одноразовых перчатках и чаще мыть руки.

II. Правила работы.

1. Работать в отделении следует в специально предназначенных для этого халатах. Хранить их необходимо в шкафу при входе в отделение, надевать перед работой, снимать при выходе из отделения.

2. Вся мебель и оборудование в отделении должны иметь пластиковое или металлическое покрытие, легко поддающиеся дезинфекции. На столах должны стоять емкости с дезинфицирующим раствором (70% раствор этилового спирта).

3. Пробирки с биоматериалом должны быть промаркированы тщательно закрыты (пробки, парафильм, пластырь) и доставляться в небьющихся контейнерах, легко поддающихся дезинфекции.

4. Все работы, связанные с приемкой биоматериала и постановкой метода, необходимо делать в одноразовых перчатках. Во время работы все повреждения на руках должны быть закрыты (лейкопластырь, напальчник).

5. Центрифугирование пробирок с биообразцами необходимо проводить в центрифуге, имеющей отдельные крышки на каждом стакане.

6. При работе с биоматериалом следует пользоваться средствами, предохраняющими глаза от попадания капель жидкости (защитное стекло, щиток, очки).

7. Все одноразовые материалы, контактирование с исследуемым биоматериалом (пробки, наконечники, клеящая бумага, перчатки) необходимо сразу же после использования сбрасывать в специальную емкость с дез. раствором (70% этиловый спирт).

8. По окончании работы все рабочие поверхности (столы, оборудование) протереть тампоном, смоченным дез. раствором. Все использованные при постановке одноразовые материалы тестовые пробирка, перчатки, пробки, плато и пр.) замочить.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1) Расположите в правильной последовательности последовательность процессов:

- а) предстерилизационная очистка→стерилизация
- б) предстерилизационная очистка→стерилизация→дезинфекция
- в) предстерилизационная очистка→дезинфекция→стерилизация
- г) дезинфекция→предстерилизационная очистка→стерилизация

2) Азопириновая проба оценивает качество:

- а) дезинфекции
- б) предстерилизационной очистки
- в) стерилизации
- г) тиндализации

3) Для контроля качества предстерилизационной обработки применяют

- а) азопириновую пробу
- б) полимеразную цепную реакцию
- в) амидопириновую пробу
- г) бактериологическое исследование

4) Дробная стерилизация используется для обработки:

- а) медицинских изделий из металлов
- б) перевязочного материала
- в) объектов которые могут быть питательным субстратом для микроорганизмов
- г) жидких медикаментов

5). При дезинфекции изделий медицинского назначения кипячением в дистиллированной воде с 2% двууглекислым натрием (содой) экспозиция составляет:

- а) не менее 5 минут
- б) не менее 10 минут
- в) не менее 15 минут
- г) не менее 40 минут

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4.

Тема: Микробиоценоз полости рта. Резидентная микрофлора различных биотопов ротовой полости. Зубной налёт и его изучение при оценке гигиенического состояния ротовой полости.

Учебная цель:

1. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.
2. Изучить микрофлору зубного налета.

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала из зубного для проведения бактериологического метода диагностики.
2. Состав микрофлоры зубного налета.

Студент должен уметь:

1. Провести забор материала из зубного налета.
2. Провести бактериологическое исследование зубного налета.
3. Приготовить мазок и окрасить его по Граму.

План занятия:

1. Симбиоз, этапы симбиоза.
2. Полость рта как экологическая ниша организма.
3. Основные представители резидентной микрофлоры полости рта, их свойства.
4. Зубная бляшка. Механизм ее формирования. Локализация.

Самостоятельная работа студентов:

1. Зарисовать в виде схемы морфологию основных резидентов полости рта:
 - 1) анаэробных грам-положительных (пептострептококки, актиномицеты, пропиони- и зубактерии) и грам-отрицательных (вейлонеллы, бактериоды, фузобактерии, извитые формы);
 - 2) аэробных и факультативно-анаэробных грам-положительных (стрептококки, стафилококки, Корине- и лактобактерии) и грам-отрицательных (нейсерии, псевдомонас),
2. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов в полости рта подвержено значительным колебаниям. В настоящее время описано несколько сотен видов микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. В ее состав входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие.

Количество микробной флоры зависит от гигиенического содержания полости рта, курение способствует размножению микроорганизмов, вызывает хроническое воспаление слизистой оболочки. Твердая пища больше влияет на уменьшение количества микробов, т.к. жевание способствует механической очистке ротовой полости от микроорганизмов. Расстройство слюноотделения, жевания и глотания всегда приводит к нарастанию количества микроорганизмов в ротовой полости.

Наличие кариозных полостей, десневых карманов, плохо припасованные зубные несъемные протезы и др. обуславливают довольно высокую частоту формирования очагов хронической инфекции с последующей аллергизацией организма и высокой степенью риска развития общих аутоиммунных заболеваний.

Микрофлора полости рта новорожденного представлена в основном молочнокислыми палочками, негемолитическими стрептококками и непатогенными стафилококками. Ее довольно быстро (в течение недели) сменяют микроорганизмы, характерные для полости рта взрослого человека.

Главными обитателями полости рта взрослого человека являются бактерии, преимущественно (3/4 всех микробных видов) анаэробного типа дыхания. Среди них встречаются разнообразные кокки, палочки, извитые формы.

Несмотря на большое разнообразие микроорганизмов полости рта, количественно в ней преобладают микробы трех групп: около половины являются факультативно- и облигатно-анаэробные стрептококки, а другая половина состоит из вейлонелл (меньше 1/4) и дифтероидов (менее 1/4). Остальные многочисленные группы бактерий - стафилококки, лактобактерии, жгутиковые, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактероиды, нейссерии, гемофилы, микоплазмы, дрожжи, простейшие - представляют собой малые популяции по количеству, но равноправные группы по формированию ассоциации резидентов.

Таблица

Микрофлора полости рта в норме.

Микроорганизмы	В слюне		В зубно-десневых карманах (частота обнаружения в %)
	частота обнаружен. в %	количество в 1 мл	
Группа А. Резидентная флора 1. Аэробы и			
Streptococcus salvarius	100	10^7	100
Streptococcus mitis	100	10^5-10^8	100
Сапрофитные нейссерии	100	10^5-10^7	++
Лактобактерии	90	10^3-10^4	+
Стафилококки	80	10^3-10^4	-н-
Дифтероиды	80	Не опред.	+
Гемофилы	60	Не опред.	0
Пневмококки	60	Не опред.	Не определено
и др.	30	10^2-10^4	++
Сапрофитные	++	Не опред.	++
Тетракокки	++	Не опред.	++
Дрожжеподобные грибы	50	10^2-10^3	+
Микоплазмы	50	10^2-10^3	+
Простейшие:	0	0	45
Entamoeba gingivalis			
Trichomonas	0	0	25
II. Облигатные анаэробы	100	10^6-10^8	100
Анаэробные стрептококки			

(пептостреп тококки)	100	Не опред.	100
Бактероиды	100	Не опред.	100
Фузобактер ии	75	ioMo4	100
Нитевидные бактерии	100	102-104	100
Актиномице ты и анаэробные дифтероиды	100	Не опред.	++
Спириллы и вибрионы	++	Не опред.	.1. ++
Спирохеты (сапрофитн	±	Не опред.	100
Группа Б. Непостоянн	15	10-102	. 0
Klebsbrieila	2	10-102	+
Esclierichia	3	10-102	0
Aerobacter	±	Не опред.	0
Pseudomona s	±	Не опред.	0
Proteus	±	Не опред.	0
Alcaligenes	±	Не опред.	0
Бациллы			
II. Облигатны е анаэробы			
Клостридии	+	Не опред.	0
Cloatridium putrificun	±	Не опред.	0
Clostridium perfringens	+	Не опред.	0

Обозначение: ++ часто, + не очень часто, ± редко, 0 не обнаружены.

Количество микробов в полости рта неодинаково в разных его экологических нишах: слизистой оболочке, зоне десневого желобка, протоках слюнных желез, слюне и ротовой жидкости, зубной бляшке.

Так, например, содержание бактериальных клеток в слюне (ротовой жидкости) составляет от 50 млн. до 5 млрд., причем большинство бактерий попадает в слюну со спинки языка. В зубном налете (бляшке) микробов значительно больше: от 100 до 1000 млрд. в грамме материала. Самую большую группу среди встречающихся в полости рта бактерий составляют кокки. (Таблица 2).

Основные группы резидентной флоры полости рта по морфологии и типу дыхания.

Окраска по Граму	Морфология	Питание рода
1 ГРУППА: С анаэробным типом дыхания (облигатные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	VEILLONELLA
	палочки	BACTEROIDES PORPHYROMONAS PREVOTELLA FUSOBACTERIUM LEPTOTRICHIA
Грам-позитивные	кокки	PEPTOSTREPTOCOCCUS PEPTOCOCCUS
	палочки беспоровые	LACTOBACTERIUM BIFIDOBACTERIUM EUBACTERIUM PROPIONIBACTERIUM ACTINOMYCES
	палочки спорообразующие	CLOSTRIDIUM
2 ГРУППА: С аэробным и смешанным типом дыхания (аэробы и факультативные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	NELSSERIA
	палочки	PSEUDOMONAS BORDETELLA EIKENELLA
Грам-позитивные	кокки	STREPTOCOCCUS STAPHYLOCOCCUS
	палочки беспоровые	CORINEBACTERIUM NOCARDIA, ROTHIA
	палочки спорообразующие	BACILLUS

Стафилококки. Отдел Firmicutes, семейство Micrococcaceae, род Staphylococcus. В род Staphylococcus по классификации Байрд— Паркер входят 3 вида: S. aureus, S. epidermidis и S. saprophyticus. Предложенные недавно другие классификации включают большее количество видов стафилококков, но они используются пока только в научных исследованиях.

Все виды стафилококков представляют собой округлые клетки диаметром 0,5—1 мкм. В мазке располагаются обычно несимметричными гроздьями («гроздья винограда»), но встречаются одиночные клетки, пары клеток. Грамположительны. Спор не образуют, жгутиков не имеют. У некоторых штаммов можно обнаружить капсулу. Могут образовывать L-формы. Клеточная стенка содержит большое количество пептидогликана, связанных с ним тейхоевых кислот, протеин А.

Стафилококки хорошо растут на простых средах (рН 7,0—7,5); факультативные анаэробы. На плотных средах образуют гладкие круглые выпуклые колонии с различным пигментом. Пигмент не имеет таксономического значения. Могут расти на агаре с высоким содержанием (8—10 %) NaCl. Продуцируют сахаролитические и протеолитические ферменты. Стафилококки вырабатывают гемолизины, фибринолизин, фосфатазу, р-лактамазу, бактериоцинины, энтеротоксины, коагулазу, ДНК-азу,

лейкоцидины, лецитовителлазу и др.

Стафилококки очень пластичны: быстро вырабатывают устойчивость к антибактериальным препаратам. Существенную роль в этом играют плазмиды, передающиеся с помощью трансдуцирующих фагов от одной клетки к другой. R-плазмиды детерминируют устойчивость к одному или нескольким антибиотикам, в том числе и за счет экстрацеллюлярной продукции р-лактамазы — фермента, разрушающего пенициллин, разрывающего его р-лактамное кольцо.

Возбудителем стафилококковых инфекций чаще бывает *S. aureus*, несколько реже — *S. epidermidis*, очень редко — *S. saprophyticus*. Стафилококки являются представителями нормальной микрофлоры человеческого тела, поэтому микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций не может ограничиться выделением и идентификацией возбудителей; необходимы количественные методы исследования, т. е. определение числа микроорганизмов в пробе.

Стафилококки в полости рта здорового человека встречаются в среднем в 30 % случаев. В зубном налете на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staph. epidermidis*. Значительно чаще патогенные стафилококки локализируются на слизистой глотки и носа, обуславливая так называемое "здоровое бактерионосительство". Обладая ферментативной активностью, стафилококки принимают участие в расщеплении остатков пищи в полости рта. Такие постоянные носители патогенного стафилококка являются источником воздушно-капельной инфекции. Патогенные стафилококки, встречающиеся на слизистой носоглотки и в полости рта являются частой причиной аутоинфекции, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта.

Лечение стафилококковых инфекций обычно проводят антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. В последние годы от больных часто выделяют стафилококки, резистентные к большинству химиотерапевтических препаратов. В таких случаях для лечения используют антитоксическую противостафилококковую плазму или иммуноглобулин, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. Для активной иммунизации (плановых хирургических больных, беременных женщин) может быть использован адсорбированный стафилококковый анатоксин.

Стрептококки. Отдел Firmicutes, семейство Streptococcaceae, род Streptococcus. В род Streptococcus входят более 20 видов, среди которых есть представители нормальной микрофлоры человеческого тела и полости рта, а также возбудители тяжелых инфекционных эпидемических заболеваний человека.

Стрептококки — мелкие (меньше 1 мкм) шаровидные клетки, располагающиеся цепочками или попарно, грамположительны, спор не образуют, неподвижны. Большинство штаммов стрептококков образуют капсулу, состоящую из гиалуроновой кислоты. Клеточная стенка содержит белки (М-, Т- и R-антигены), углеводы (группоспецифические) и пептидогликаны. Легко переходят в L-формы.

Генетический обмен возможен за счет трансформации и трансдукции, но не конъюгации. Устойчивость к антибиотикам вырабатывается медленно.

Стрептококки группы А вырабатывают более 20 внеклеточных веществ, обладающих антигенной активностью. Наибольшее значение в патогенезе стрептококковых инфекций имеют:

- стрептокиназа (фибринолизин) — протеолитический фермент, расщепляющий фибрин и другие белки;
- ДНК-аза — фермент, деполимеризующий ДНК. Смесь ДНК-азы и фибринолизина способна разжижать экссудаты, лизировать венозные тромбы, поэтому может быть использована для удаления гноя и некротизированных тканей из раны;
- гиалуронидаза — фермент агрессии, разрушающий гиалуро-новую кислоту, входящую в состав соединительной ткани («фактор проницаемости»);
- эритрогенин — токсин, продуцируемый р-гемолитическими

стрептококками группы А, способными вызывать скарлатину. Выделяется только лизогенными культурами.

Стандартизованный разведенный эритрогенин используют при постановке внутрикожной пробы (проба Дика) для выявления чувствительности к этому токсину (восприимчивость к скарлатине).

Стрептококки являются основными обитателями полости рта. В 1 мл слюны содержится до 10^8 - 10^9 стрептококков. Тем не менее, в пробах слюны их примерно в 2 раза больше, чем в материале из бляшки или десневого желобка. Наиболее значительной группой стрептококков полости рта следует считать микроаэрофильные а-гемолитические ("зеленящие") стрептококки и j - негемолитические формы. Следует отметить, что от 40 - 90 % штаммов вида *milled* могут быть В-гемолитическими, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба и пародонта. В эту группу входят *Streptococcus mutants*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarium*. Они отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода.

Сдвиг pH в кислую сторону приводит к декальцинации зубной эмали. Особо следует подчеркнуть высокие способности микроаэрофильных стрептококков к агрегации с другими бактериями, которые показаны, в частности, в отношении актиномицетов, фузобактерий, лактобактерий. Все это способствует обнаружению данных видов в составе ассоциаций возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах в челюстно-лицевой области. Но особенно значительна их роль в развитии кариеса. Ведущее место в этом плане занимают два вида, активно продуцирующие из углеводов пищи молочную и другие кислоты на эмали - *S. mutans* и *S. sanguis*.

Все виды стрептококков плохо растут и погибают на простых питательных средах, т.к. в процессе роста и размножения стрептококки выделяют много перекиси водорода, которая действует на них губительно, т.к. они не продуцируют каталазу. Для создания оптимальных условий роста к питательной среде обычно добавляют кровь, в которой содержится каталаза, разрушающая перекись водорода. На кровяных средах стрептококки хорошо растут в аэробных условиях, при этом одни из них образуют на кровяном агаре колонии, окруженные зоной полного гемолиза (это гемолитические (В) стрептококки), другие окружены зоной зеленоватого цвета (зеленые стрептококки), у третьих (у) гемолиз отсутствует (негемолитические стрептококки).

Стрептококки выделяют экзотоксин и ферменты агрессии. Во внешней среде менее устойчивы, чем стафилококки. Большинство чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам. По антигенной структуре все стрептококки делят на 17 серологических групп (А, В, С, D, ... и до S), чаще других в полости рта обнаруживаются стрептококки групп А, С, D, F, G, H и O.

Пептострептококки - Gr + облигатно-анаэробные кокки, которые включают два рода - *Peptostreptococcus* и *Peptococcus*. Широко представлены во всех нишах полости рта. Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при кариесе, пульпите, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области.

Вейллонеллы - это облигатно-анаэробные, Gr -, мелкие кокко-бактерии, неподвижны, спор не образуют. Являются постоянными обитателями полости рта человека и животных. Изолированные колонии на лактат-агаре имеют 1-3 мм в диаметре, гладкие, выпуклые, чечевицеобразные, ромбовидной или сердечной формы, желто-белые, мягкие по консистенции. В полости рта встречаются представители двух видов вейллонелл (*V. parvula*, *V. alcalescens*), которые населяют слизистую оболочку полости рта, нёба, являются доминирующими в слюне и протоках слюнных желез. Хорошо ферментируют уксусную, пировиноградную и молочные кислоты, нейтрализуя кислые продукты метаболизма других бактерий, это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший фактор, резистентности к кариесу зубов. Патогенная роль вейллонелл не доказана.

Дифтероиды, или коринебактерии, представляют собой группу бактерий, количественно сопоставимую с вейллонеллами.

Это полиморфные грам-позитивные палочки, располагающиеся упорядоченно («частоколом» или группами) в мазке из чистой культуры. Микробы некоторых видов способны формировать включения - зерна волютина.

Классификация дифтероидов полости рта до настоящего времени остается неразработанной. При исследовании материала дифтероидов зачастую трудно дифференцировать от актиномицетов и пропионибактерий. Факультативно-анаэробные виды дифтероидов составляют приблизительно 13% от числа резидентов, выделяемых со спинки языка, 15% - из десневого желобка и 24% - из зубной бляшки. Представители дифтероидов с облигатно-анаэробным типом дыхания составляют в этих материалах соответственно 8, 20 и 18%.

Дифтероиды играют важную роль в полости рта как стабилизирующий фактор орального микробиоценоза, так как синтезируют витамины, в частности, витамин К, являющийся стимулятором роста анаэробных бактерий. Редуцируя в процессе дыхания молекулярный кислород, они активно содействуют развитию облигатно-анаэробной флоры в аэробных условиях.

Показана мощная иммуномодулирующая активность антигенов дифтероидов (коринебактерии) на организм человека, что используется при лечении иммунодефицитов. Вместе с тем у коринебактерии обнаружены некоторые ферменты агрессии и токсические полимеры, они нередко обнаруживаются в ассоциациях с возбудителями гнойного воспаления.

Лактобактерии постоянно находятся в полости рта, неподвижны, спор и капсул не образуют, Гр + отличаются большим полиморфизмом. Растут на элективных питательных средах, содержат такие факторы роста, как витамины и некоторые аминокислоты. Растут в виде мелких, бесцветных, уплотненных колоний. Обладают довольно низкими адгезивными свойствами к эпителию слизистой и особенно к эмали зуба, однако представлены во всех нишах полости рта. Бурно размножаются при поступлении в полость рта углеводной пищи и обильно продуцируют молочную и другие кислоты, что позволяет их рассматривать, как кариесогенный фактор. Вместе с тем, лактобактерии играют важнейшую стимулирующую роль при формировании микробной ассоциации полости рта, так как синтезируют витамины групп В и К, необходимых для развития других бактерий и организма.

Ввиду образования большого количества молочной кислоты в процессе жизнедеятельности лактобактерий, они задерживают рост других микробов: стафилококков, кишечной палочки, брюшнотифозных и дизентерийных палочек. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий по отношению к ряду гнилостных микробов были замечены ещё И.И. Мечниковым, который предложил употреблять простоквашу, изготовленную из молока, заквашенного молочнокислыми палочками. До 90 % обитающих в полости рта лактобактерии относятся к видам *Lactobacterium casei*, *Lactobacterium fermenti*.

Актиномицеты - представлены мелкими Гр + палочками, имеющими тенденцию к образованию переплетающихся и ветвящихся нитей или более коротких цепочек. Актиномицеты находятся на слизистой оболочке рта, составляют строму зубного камня и входят в состав зубного налета. Наряду с этим они содержатся в кариозных полостях зубов, в патологических десневых карманах, в протоках слюнных желез.

Представители данного семейства могут принимать участие в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов, а также заболеваний парадонта. В полости рта имеются излюбленные места проникновения актиномицетов в глубину тканей - воспаленная десна около зуба мудрости или около разрушенных корней зубов, патологические десневые карманы при парадонтозе, корневые каналы зубов с омертвевшей пульпой, миндалины.

Для возникновения заболевания недостаточно только внесение актиномицета вглубь ткани, определенную роль играет и состояние защитных сил, понижение сопротивляемости организма к инфекции.

Бактероиды - представляют группу коккоподобных, овоидных или полиморфных палочковидных Гр - бактерий. С 1990 года разделены на три рода: Porpluroman (представитель - P. Gingivalis населяют десневой желобок, зубную бляшку), Prevotella (важнейший вид - P. Melaninogenica населяет карманы слизистой оболочки, фиссуры зуба, десневой желобок), Bacteroides (представитель - B. Fragilis встречается в складках слизистой у основания зубов, однако более типичен для кишечника. Для роста на питательных средах этим микроорганизмам необходим гемотин и витамин К. На кровяном агаре B. melaninogenicus формирует черные колонии. Наличие протеолитических ферментов у бактериоидов (коллагеназы, гиалуронидазы, гепариназы, Jg A -; Jg W-; Jg M – протеазы) имеет большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта.

Фузобактерии - удлиненные Гр - палочки, чаще с заостренными концами, нередко формирующие цепочки и нити. Населяют как слизистую рта, так и зубную бляшку.

Фузобактерии продуцируют мощные гистолитические ферменты -гиалуронидазу, лецитиназу, имеют эндотоксин. Наряду с бактериоидами и пептококками считаются основными возбудителями разнообразных гнойно - воспалительных процессов в полости рта, включая язвенно -некротические фасцииты.

Нейссерии - род Neisseria - Гр - диплококки, обнаруживаемые в различных нишах полости рта, особенно на поверхностях, которые постоянно соприкасаются с воздухом - спинка языка, мягкое нёбо, эмаль зубов. Патогенная роль их не доказана.

Дрожжеподобные грибы в полости рта здоровых людей встречаются в 40 - 50 % случаев. Кандида имеют вид овальной или удлиненной формы клеток размером 7 - 10 мкм, часто отпочковываются новой клеткой. Аэроб растут на среде Сабуро, содержащей дрожжевой экстракт и мальтозу, где вырастают выпуклые колонии матового цвета.

В полости рта чаще всего встречаются следующие виды: Candida albicans, Candida tropicalis, Candida crusei. Патогенные свойства наиболее выражены у C. albicans. Грибы вызывают общее заболевание организма -кандидомикоз или местное поражение полости рта - "молочницу".

Спирохеты - заселяют ротовую полость с момента прорезывания молочных зубов у ребенка и с того времени становятся постоянными обитателями полости рта. Гр -, подвижны, строгие анаэробы, растут на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость с добавлением свежих кусочков различных органов, на средах образуют помутнение в виде облачка. Высокая протеолитическая активность, разжижают желатин, яичный белок, свернутую сыворотку, образуют индол, сероводород, аммиак.

Легче всего их обнаружить в темном поле зрения при микроскопии нативного препарата.

Спирохеты вызывают патологические процессы в полости рта при значительном размножении все анаэробных микроорганизмов.

Простейшие полости рта - встречаются у 50 % здоровых людей, преимущественно в зубном налете, криптах миндалин (Entamoeba gingivalis). Размножаются при негигиеническом содержании полости рта. Их обнаруживают в гное из десневых карманов при тяжелой форме альвеолярной пиорреи Д - 20 - 30 нм. Аэробы, подвижны, видны лучше в нативном неокрашенном препарате (раздавленная капля). Выращивают на кровяном или сывороточном агаре, залитым слоем жидкости Рингера и с добавлением раствора триптофана (1 : 10000).

Значительно чаще, чем амёбы, в полости рта здоровых людей встречаются трихомонады. Слабо подвижны, хорошо видны в нативном препарате, в живом состоянии.

При окрашивании по Романовскому - Гимзе ядро блефаропласта и жгутики окрашиваются в красный цвет, протоплазма - в голубой. Усиленное размножение трихомонад происходит так же, как и амёб, при негигиеническом содержании полости рта. В очень большом количестве они обнаруживаются при пародонтитах, при гингивитах.

Вирусы полости рта. Почти у всех здоровых людей в полости рта постоянно находится вирус герпеса (*Herpes vilgaris*). Заражение этим вирусом происходит еще в детстве воздушно-капельным путем от взрослых вирусоносителей. *Herpes vilgaris* относится к группе ДНК-содержащих герпесвирусов, размер 150 Нм. Выращивается на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона.

При ослаблении защитных сил макроорганизма в результате простуды, переутомлений и т.п. возможен рецидив болезни.

Клостридии. Род *Clostridium* - грам-позитивные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны благодаря наличию жгутиков. Биохимически они активны. В норме входят в состав микробиоценоза кишечника. В полости рта определяются некоторые виды непостоянно.

Выделяются у больных с гнойными ранами челюстно-лицевой области, редко - при одонтогенных воспалительных процессах. При загрязнении раневой поверхности и обширной травматизации тканей возможно развитие экзогенной клостридиальной анаэробной инфекции, клинические проявления которой соответствуют классической картине газовой гангрены. Основные виды: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. clostridiiforme*, *C. bifermentans* (последний встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

Прочие резиденты. Среди бактерий с аэробным типом дыхания в полости рта встречаются также представители актиномицетной линии - нокардии и ротии (*Rothia dentocariosae*), которые, обладая высокими адгезивными и коагрегационными свойствами, способствуют формированию зубной бляшки. Последний вид нередко определяется в кариозных полостях и свищах при актиномикозе, а также при неспецифических остеомиелитах челюстно-лицевой области.

Неферментирующие грам-негативные бактерии полости рта представлены родами *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Eikenella* (*E. corrodens*) и некоторыми другими. Среди них наиболее известны бактерии *Pseudomonas (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, которые бурно развиваются у некоторых молодых людей, вызывая прогрессирующий гнойный юношеский пародонтит. Их роль в развитии пародонтита взрослых в настоящее время изучается.

Зубная бляшка. Ее значение в развитии кариеса зубов.

С помощью сканирующей электронной и иммунолюминесцентной микроскопии показано, что зубная бляшка состоит в основном из микробов с незначительным включением бесструктурного вещества органической природы.

В формировании зубной бляшки можно выделить несколько основных механизмов.

1. Адгезия к эмали эпителиальных клеток, инвазированных бактериями, с последующим ростом микроколоний,
2. Преципитация внеклеточных гликанов, продуцируемых *S. mutans* и *S. Sanguis*.
3. Осаждение гликопротеинов слюны, формирующих пелликулу с последующей специфической адгезией к ней бактерий.
4. Агглютинация бактерий антителами с последующей фиксацией на поверхности эмали.

С помощью иммунолюминесцентной микроскопии показано, что бактерии в зубной бляшке покрыты иммуноглобулинами классов А и G.

Зубная бляшка начинает образовываться уже в первые минуты после чистки

зубов, причем в динамике ее формирования происходят значительные изменения характера микробиоценоза. Общей тенденцией является изменение состава флоры от доминирования аэробных и факультативно-анаэробных форм, преимущественно грам-положительных кокков, к облигатно-анаэробным грам-отрицательным палочкам и извитым формам.

1 фаза формирования зубной бляшки - первые 1-4 часа после тщательной чистки зубов (или обработки ультразвуком на аппарате "Пьезон-мастер"). Она преимущественно состоит из кокков (стрептококки, нейссерии, вейллонеллы) и коротких палочек (дифтероиды). Это, так называемая, «ранняя» зубная бляшка.

2 фаза - до 4 - 5 дней. Характеризуется уменьшением доли грам-положительных кокков и нарастанием доли грам-вариабельных нитевидных форм - лептотрихий, а также грам-отрицательных вейллонелл и фузобактерий. Это фаза может быть охарактеризована как "равновесная" или "динамичная" зубная бляшка. У лиц с хорошими адаптационными способностями, с так называемой "высокой естественной санацией" микробиоценоз зубной бляшки может поддерживаться в этом состоянии на протяжении значительных отрезков жизни, не переходя к следующей фазе (при отсутствии систематической чистки зубов).

3 фаза - от 6 - 7 дней и далее. Зубная бляшка принимает окончательный по составу симбионтов вид, хотя количественные сдвиги в ней происходят постоянно. Резко снижается количество аэробных видов - нейссерий, ротий, факультативно-анаэробных стрептококков. Доминируют грам-отрицательные облигатно-анаэробные бактерии-бактероиды, фузобактерии, вейллонеллы и грам-положительные актиномицеты, микроаэрофильные стрептококки и пептострептококки. Это "зрелая" зубная бляшка. Она характеризует отрицательное гигиеническое состояние полости рта и может индуцировать развитие гингивита у лиц, которые не регулярно чистят зубы.

Общее количество бактерий в зубной бляшке увеличивается от 100-5000 в I фазе формирования до 1 - 10 млн/г во 2 фазе. В 3 фазе формирования, в зависимости от многих факторов, количество бактерий исчисляется десятками и сотнями миллиардов в 1 г.

Установлено, что микробы обладают разной способностью к адгезии даже в отношении различных поверхностей зуба. Кроме того, на процесс адгезии влияют и механические факторы, связанные с процессом жевания, физико-химические условия и т. п. Поэтому на разных поверхностях зубов, в ямках и фиссурах состав микрофлоры несколько отличается, даже в пределах одного зуба.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий - «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу pH среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной и других кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов - декстранов и леванов. У больных кариесом продукция органических кислот значительно выше, а нормализация метаболической активности происходит медленнее.

В последние годы установлена роль некоторых резидентов-участников микробиоценоза зубной бляшки как антагонистов кариесогенных стрептококков.

Прежде всего это относится к вейллонеллам - грам-негативным анаэробным коккам, которые активно утилизируют кислоты. Это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший микрoэкологический фактор кариесрезистентности.

Зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем состав ее несколько отличается и зависит от характера и качества пломбировочного материала. Наиболее богато представлена микробная флора на цементах и амальгамах. Средний уровень колонизации характерен для макрокомполитных пломбировочных материалов. И, наконец, на микрокомполитных и гибридных материалах зубная бляшка формируется плохо из-за низкого аффинитету бактерий. Обычно в составе бляшки на микрокомполитных пломбах определяются лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты в небольшом количестве.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий — «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу рН среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов — декстранов и Леванов.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом, металлическим шпателем или тампоном с последующим взвешиванием на аналитических весах. После этого, в зависимости от задач исследования, проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования. Количество бактерий выражают в колониеобразующих единицах (КОЕ) в грамме материала.

Идентификация выделенных культур до рода и вида позволила выявить существенные различия доли бактерий разных родов в зубной бляшке и на слизистой оболочки полости рта. Так, в составе зубной бляшки доминировали по частоте выделения актиномицеты (20,4 %) и анаэробные кокки рода *Peptostreptococcus* (17,2 %)- По сравнению с частотой выделения со слизистой оболочки в зубной бляшке было также значительно больше альфа-зеленящих стрептококков (почти в 3 раза), лакто- и бифидобактерий (в 9 раз). Бактерии группы бактероидов и рода *Fusobacterium* по частоте выделения конкурировали с доминирующей флорой (14,7 и 5,7 %), однако их доля была значительно меньше, чем при выделении со слизистой оболочки полости рта.

При идентификации штаммов микроорганизмов, выделенных со слизистой оболочки полости рта, доминирующей флорой по частоте встречаемости были бесспорные грам-отрицательные анаэробы группы бактероидов (23,7 %) и рода *Fusobacterium* (14,9 %). При этом надо подчеркнуть, что бактероиды выделялись почти в 2 раза, а фузобактерии - в 2,5 раза чаще, чем из зубной бляшки. Пептострептококки также достаточно часто выделялись со слизистой (15,8 %), хотя несколько реже, чем из зубной бляшки. Частота выделения других кокков - вейллонелл, пептококков, микроаэрофильных стрептококков и стафилококков — практически не отличалась в зубной бляшке и со слизистой.

Обращала на себя внимание значительно более низкая частота выделения со слизистой оболочки актиномицетов, альфа-стрептококков и лактобактерий. Доля факультативно-анаэробных и аэробных бактерий в зубной бляшке и на слизистой практически не различалась.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

- 1) Количественное соотношение резидентов в экологической нише определяется...
а – наличием у резидентов факторов инвазивности
б – наличием у резидентов факторов инфективности
в – состоянием защитных сил организма
г – токсигенностью резидентов
- 2) После прорезывания зубов в полости рта появляется значительное количество...
а – нейссерий и гемофилов
б – бацилл и клостридий
в – лактобактерий и коринебактерий
г – бактероидов и извитых форм
- 3) Кариесогенное действие бактерий в ночное время реализуется благодаря...
а – наличию лектинов клеточной стенки
б – продукции полимеразы
в – синтезу гликанов
г – образованию капсулы
- 4) Под «метаболическим взрывом» в полости рта понимают...
а – резкое усиление гликолиза и фосфорилирования после приема пищи
б – дегрануляцию иммунокомпетентных клеток
в – активацию комплемента по альтернативному пути
г – выброс ферментов агрессии и токсических метаболитов микробов
- 5) Факторами неспецифической резистентности ротовой жидкости являются...
а – циркулирующие иммуноглобулины
б – секреторные иммуноглобулины
в – миелопероксидаза слюны
г – Т-лимфоциты

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5.

Тема: Кариесогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при кариесе зубов и его осложнениях. Компьютерная кариограмма.

Учебная цель:

1. Ознакомиться с методикой забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
2. Изучить микрофлору при кариесе.
3. Рассмотреть роль микрофлоры в возникновении и развитии кариеса

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала из кариозной полости для проведения бактериологического метода диагностики.
2. Состав микрофлоры полости рта при кариесе зубов.

Студент должен уметь:

1. Провести забор материала из кариозной полости.
2. Провести бактериологическое исследование при кариесе зубов.
3. Приготовить мазок и окрасить его по Граму.

План занятия:

1. Особенности микрофлоры полости рта при кариесе зубов.
2. *Streptococcus mutans* и его роль в возникновении кариеса.

3. Экспериментальные подтверждения роли микробов в развитии кариеса.
4. Роль местных факторов резистентности при кариесе. Вакцина для профилактики кариеса.
5. Особенности забора материала из кариозной полости для проведения бактериологического метода исследования.

Самостоятельная работа студентов:

1. Ознакомиться с особенностями забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
2. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур кариесогенных бактерий и их антагонистов:
 - а) демонстрационный мазок из чистой культуры *Streptococcus mutans*. Окр. генцианвиолет;
 - б) демонстрационный мазок из чистой культуры актиномицетов. Окр. генцианвиолет;
 - в) демонстрационный мазок из чистой культуры *вейллонелл*. Окр. фуксин.
3. Методика количественного определения кариесогенной флоры на примере лактобациллин-теста.
4. оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Кариес - это патологический процесс, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости.

В настоящее время известно, что кариозный процесс может развиваться при следующих условиях:

1. Наличие достаточного количества углеводов в пище;
2. Наличие микроорганизмов в полости рта;
3. Контакт углеводов и микроорганизмов с зубами.

Ярким доказательством роли углеводов в возникновении кариозного процесса являются проведенные экспериментальные исследования. Все кариесогенные диеты содержат более 50 % сахарозы. Содержание в рационе экспериментальных животных меньших количеств углеводов либо не вызывает кариозный процесс, либо он развивается медленно.

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что без контакта зубов с углеводами кариозный процесс не возникает. Несомненно, важная роль принадлежит составу и структуре эмали зуба, слюне, а также характеру питания, составу питьевой воды. Изучение микробной флоры при кариесе дало возможность установить определенную последовательность проникновения различных видов микроорганизмов в ткани кариозного зуба, а также выявить сдвиги в составе всей микробной флоры полости рта при кариесе. Микроорганизмы прежде всего начинают проникать в эмаль кариозного зуба уже после разрушения структуры всех ее слоев. При начальных поражениях обнаруживаются также микроорганизмы, которые с точки зрения их биохимической активности могут быть подразделены на две группы: протеолитическую и кислотообразующую.

В протеолитическую группу входят бактериоды и пептококки. Они вырабатывают ферменты, способные расщеплять органические вещества кариозного зуба.

К кислотообразующей группе относятся стрептококки, лактобактерии и актиномицеты. Из числа стрептококков здесь чаще всего присутствуют энтерококки. Все эти микроорганизмы могут участвовать в процессе деминерализации твердых тканей кариозного зуба, т.к. они интенсивно расщепляют углеводы и образуют много органических кислот.

В кариозной полости присутствуют все представители постоянной флоры полости рта, главным образом строгие анаэробы. На кариесогенную активность оральных микроорганизмов влияет слюна - ее агрегирующие факторы, которые, с одной стороны, способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, а с другой - удаляют их при омывании полости рта.

Противокариозным действием обладает система буферов, бикарбонат - карбоновая кислота, а также протеин и спалим, находящиеся в слюне. Профилактика кариеса может быть направлена на уменьшение количества кариесогенных микроорганизмов в полости рта. Эффективно применение различных бактерицидных и бактериостатических препаратов. Хорошие результаты получают с помощью антисептиков, в частности 0,2 % хлоргексидина. При этом количество клеток *S. mutans* в зубных бляшках снижается на 80 - 85 %, а в слюне на 55 %. Покрывая зубную поверхность, хлоргексидин не только оказывает на микроорганизмы бактерицидное действие, но и препятствует их адгезии, не нарушая при этом микробного равновесия. Угнетающим действием на микроорганизмы обладает фтор и его соединения. Другой путь снижения кислотообразования и накопления глюканов - замена сахарозы другими углеводами, при ферментативном расщеплении которых эти продукты не образуются.

При заборе материала при кариесе для проведения бактериологического исследования необходимо придерживаться некоторых правил:

- а) для устранения доступа слюны в кариозную полость необходимо изолировать зуб, для чего его обкладывают ватными валиками;
 - б) поверхностные слои размягченного дентина необходимо удалить стерильным бором;
 - в) глубокий слой размягченного дентина забирают стерильным экскаватором и производят посев;
 - г) посев производят на соответствующие питательные среды для выделения анаэробной и аэробной микрофлоры.
2. Провести микроскопию демонстрационных мазков из чистых культур *Streptococcus mutans*, актиномицетов, вейллонелл под иммерсией.
3. Лактобациллин-тест производят следующим образом: нестимулированную слюну собирают натошак в стерильную пробирку. Готовят последовательные разведения слюны в стерильных условиях от 1:10 до 1:10 по 0.1 мл из каждого разведения высевают на плотную элективную питательную среду с низким рН, растирая материал шпателем по всей поверхности агара.

После инкубирования при 37 град. производят подсчет количества колоний, выросших на поверхности среды и перерасчет на общий объем слюны.

Например, при разведении слюны 1:10 выросло 10 колоний, значит в 0.1 мл неразведенной слюны содержится 10 000 клеток, а в 1 мл - 100 000 клеток.

Существует определённая зависимость между количеством кариесогенных бактерий в слюне (лактобациллы, стрептококки) и их антагонистов (вейллонелл), что позволяет дать следующие рекомендации:

- а) применять фтористые препараты для профилактики кариеса;
 - б) ограничить употребление в пищу углеводов;
 - в) усилить гигиену полости рта.
4. Оформление протокола исследований:

Таблица. Забор исследуемого материала из кариозной полости.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

- 1) Аэробными бактериями, являющимися антагонистами кариесогенной флоры можно считать...
а – нейссерии
б – вейллонеллы
в – гемофильную палочку
г – фузобактерии
- 2) Основным фактором инфективности у *Str. mutans* является...
а – образование гемолизина
б – адгезины клеточной стенки
в – декстраны, продуцируемые при утилизации сахарозы
г – молочная кислота
- 3) По данным ВОЗ группа кариесогенных микробов включает...
а – *S. mutans*, *S. sanguis*, *Lactobacterium*, *Actinomyces*
б – *S. sanguis*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *E. corrodens*
в – *S. mutans*, *S. sanguis*, *Bacteroides*, *R. dentocariosa*, *Neisseria*
г – *Lactobacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*
- 4) Для ассоциаций слизистой в области спинки языка характерно доминирование...
а – лептотрихий и грибов кандиды
б – стрептококков, в частности *Str. salivarius*
в – нитевидных форм, в частности ротий *R. dentocariosa*
г – бактериоиды и фузобактерии
- 5) С точки зрения возникновения кариеса антагонистами являются...
а – стрептококки и вейллонеллы
б – стрептококки и актиномицеты
в – стрептококки и бактериоиды
г – грибы и спирохеты

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6.

Тема: Пародонтопатогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при болезнях пародонта. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.

Тестовый контроль

Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала при гингивите.
2. Методику забора исследуемого материала при пародонтите.
3. Современные методы лечения заболеваний пародонта.

Студент должен уметь:

1. Провести забор исследуемого материала из зубодесневого кармана.
2. Провести забор исследуемого материала из пародонтального кармана.
3. Проведение бактериологического метода диагностики при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области.
4. Приготовить мазок и окрасить его по Граму.

План занятия:

1. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
2. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
3. Особенности состава микрофлоры при гингивите
4. Особенности состава микрофлоры при пародонтите
5. Пародонтогенные микробы. Доказательства их участия в патогенезе заболевания
6. Иммунологические изменения, происходящие в ответ на бактериальные антигены и токсины
7. Современные методы лечения заболеваний пародонта в соответствии с последними научными данными
8. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

1. Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-отпечатка со слизистой оболочки при язвенно-некротическом стоматите (фузоспирохетоз), окраска по Романовскому.
2. Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-соскоба со слизистой языка при лептотрихозе, окраска по Романовскому.
3. Методы лабораторной диагностики кандидоза.
4. оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

До настоящего времени не совсем ясен вопрос - является ли пародонтит логическим завершением гингивита. В эксперименте на животных (собаках) удалось продемонстрировать эту последовательность, однако у людей гингивит не всегда переходит в пародонтит.

По поводу механизма развития пародонтита существуют, как минимум, две точки зрения:

1. Существуют определённые микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей пародонта.
2. К развитию пародонтита приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменения в составе и количестве микрофлоры пародонтального кармана.

При темнопольной микроскопии выявляется значительный сдвиг в сторону палочковидных форм и спирохет, количество которых возрастает до 40%. Отношение подвижных форм к неподвижным увеличивается до 1:1 (в норме 1:49).

Электронно-микроскопическое исследование поддесневой бляшки при пародонтите выявило, что к цементу прикреплены, в основном, грамположительные микробы. Грамотрицательные клетки, жгутиковые и спирохеты присутствуют в большом количестве в неплотных слоях поддесневой бляшки, которая распространяется до верхушечной части кармана.

При бактериологическом исследовании материала от больных пародонтитом

установлено преобладание грамотрицательных анаэробных палочек, в основном, подвидов несакхаролитических *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* и др. Однако у некоторых больных наблюдали превалирование актиномицетов. Многие виды анаэробных бактерий не удавалось идентифицировать.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к пародонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактероидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Данные грамотрицательные микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам, гидроксипатиту и к грамположительным бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. Однако способность к коагрегации с грамположительными бактериями при этом не ингибируется.

При пародонтите характерным является образование микробных скоплений, напоминающих кукурузный початок, которые состоят из кокков и извитых форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных пародонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции комплемента С3, С5, лейкоциты. Ткани десны обильно инфильтрированы плазматическими клетками, лимфоцитами и макрофагами (моноцитами). Все это позволяет считать, что многие реакции антиген-антитело, проявления клеточного иммунитета происходят именно здесь, в тканях пародонта и альвеолярной кости.

Если придерживаться только микробной этиологии пародонтита, то, очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие пародонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

3. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы-антагонисты пародонтопатогенных бактерий.

4. Микроб должен пространственно локализоваться так, чтобы он или продукты его жизнедеятельности могли действовать на клетки-мишени.

5. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

Понимание этиологии и патогенеза пародонтита необходимо не только для установления роли микробов в этом процессе, но также и для выяснения условий, способствующих росту биопленки, определению роли местных и системных факторов, которые могут влиять на резистентность или чувствительность тканей пародонта к бактериям, продуктам их жизнедеятельности. Изучение индивидуальных особенностей организма хозяина в функционировании деструктивных и защитных механизмов при пародонтите позволяет оптимизировать комплексное лечение данного заболевания.

Микрофлора при периодонтитах - преобладает стрептококковая флора над стафилококковой. В начальных стадиях воспаления это обычно зеленящие и негемолитические стрептококки без группового антигена. При переходе острого периодонтита в хроническую главную роль играет стрептококковая анаэробная флора, т.е. пептострептококки, к которым присоединяются другие стрептококки. В апикальных гранулёмах обнаруживаются актиномицеты, бактероиды, фузобактерии, вибрионы и спирохеты

Микробная флора при парадонтозах.

Парадонтоз является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта и представляет собой воспалительно - дистрофический процесс в альвеолярных отростках, возникающий вследствие нарушения питания альвеол.

По поводу механизма развития парадонтоза существует, как минимум, две

точки зрения;

1. Существуют определенные микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей парадонта.

2. К развитию парадонтоза приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменение в составе и количестве микрофлоры парадонтального кармана.

Все воспалительные процессы в парадонте начинаются с образования зубных бляшек, преимущественно субгингивальных, в результате колонизации поверхности зубов факультативными анаэробами.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к парадонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактероидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella melaninogenica*. Данные Гр - микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам и к Гр + бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. При парадонтите характерным является образование микробных скоплений, которые напоминают кукурузный початок и состоят из кокков и известных форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных парадонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции комплемента Cj, C5, лейкоциты. Если придерживаться только микробной этиологии пародонрита, то очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие парадонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

3. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы - антагонисты парадонтопатогенных бактерий.

4. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

1-2. Соскоб со слизистой оболочки, спинки языка можно делать стерильным шпателем, гладилкой. Материал наносится на поверхность предметного стекла, в каплю воды. Окраска по Граму или Романовскому. Перед взятием материала из эрозий и язв целесообразно удалить поверхностный налёт стерильным ватным тампоном, не применяя при этом антисептических препаратов.

При язвенно-некротическом стоматите в мазке наблюдают обилие грам-отрицательных веретенообразных палочек (фузобактерии) и извитых форм (анаэробно-спиралли и спирохеты) на фоне лейкоцитов и слущенного эпителия.

При лептотрихозе в мазке наблюдают скопления грам-вариабельных нитевидных бактериальных форм, причём часть бактерий располагается как б в едином чехле (лептотрихии).

3. Для лабораторной диагностики кандидоза полости рта используют следующие методы:

а) При микроскопическом исследовании мазка-отпечатка со слизистой оболочки больного кандидомикозом можно увидеть: овальные и резко вытянутые клетки дрожжеподобного гриба, расположенные в виде длинных цепочек (псевдомицелий). Не псевдомицелии формируются колбовидные вздутия, от которых отшнуровываются хламидоспоры (признак вида *C.albicans*).

б) При бактериологическом методе исследования материал, полученный от больного, высевают на среды Сабуро (агар-агар, углеводы, пептон) при $t = 37$ град., в течение 3-5 суток. Выросшие колонии на этой среде изучают макроскопически.

Колонии гриба рода *Candida* круглые, беловатые, выпуклые, гладкие с ровными

краями, поверхность блестящая. Иногда колония врастает в агар.

При микроскопическом изучении в мазках виден псевдомицелий, состоящий из овальных вытянутых, пальцевидных клеток, расположенных скоплениями. Хламидоспоры круглые, напоминают связки шаров.

в) При висцеральных микозах применяют для диагностики серологические реакции - агглютинации и РСК. Для этих реакций у больного берут сыворотку и определяют наличие антител в сыворотке больного с кандидозным диагностикумом.

Схема реакции агглютинации

Компоненты пробирок	1	2	3	4	5	6	7
1. Физ. р-р	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
2. Исследуемая сыворотка 1:40	1.0 1:80	1.0 1:160	1.0 1:320	1.0 1:640	1.0 1:1280	1.0 1:80	- -
3. Клеточный антиген (диагностикум)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-
УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ							

Учет результатов проводят, начиная с контрольных пробирок (6 и 7). О результатах реакции судят по образованию осадка в опытных пробирках.

4-6. Теоретически разобрать клинические проявления в полости рта при сифилисе, дифтерии, туберкулёзе, герпесе, ящуре пользуясь учебным пособием. Результаты оформить в виде таблицы (по графам: нозологическая форма; возбудитель и его морфология; клинические симптомы в полости рта).

7. Оформление протокола исследования по пп. №1-3.

Таблица. Забор исследуемого материала при пародонтите

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Таблица. Забор исследуемого материала при гингивите

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

- 1) К парадонтопатогенным видам относят
 - а) *Porphyromonas gingivalis*
 - б) *Str. mutans*
 - в) *Prevotella melaninogenica*
 - г) *Staf. Aureus*

- 2) Микробная флора при пульпите представлена:
 - a. фузобактериями
 - b. стафилококками
 - c. стрептококками группы Д
- 3) Для диагностики болезней пародонта применяют методы:
 - a. рентгенологический
 - b. определение индекса Федорова – Володкиной
 - c. определение индекса Green – Vermillion
 - d. определение индекса CPITN
 - e. клиническое исследование крови
- 4) Основной метод обследования стоматологического больного:
 - a. рентгенологический
 - b. клинический
 - c. цитологический
 - d. лабораторный
- 5) Стерилизация это комплекс мероприятий направленных на:
 - а) уничтожение на объектах конкретных видов микробов
 - б) предотвращение попадания микроорганизмов в рану
 - в) полное обеспложивание объектов от всех видов микробов
 - г) уничтожение вирулентных видов микробов.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7.

Тема: Изучение микрофлоры гнойного отделяемого при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области. Техника анаэробного культивирования бактерий с количественным учётом. Способы идентификации и определения чувствительности анаэробов к антибиотикам.

Учебная цель:

1. Техника анаэробного культивирования бактерий с количественным учетом
2. Способы идентификации и определения чувствительности к антибиотикам.
3. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.
4. Особенности этиологии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области (ассоциации, микс- инфекции).
5. Ознакомиться с методами забора и микробиологического исследования материала при острых и хронических воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области.
6. Изучить основных представителей оппортунистической анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.

Студент должен знать:

1. Какие методы забора исследуемого материала используют при бактериологическом исследовании микрофлоры при пульпите и хроническом периодонтите?
2. Какие условия являются обязательными при транспортировке материала от больного анаэробной инфекцией?
3. Какие группы бактерий наиболее часто выделяются при хронических воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области?
4. Какие группы бактерий наиболее часто выделяются при острых воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области?
5. Методы культивирования анаэробных бактерий.

6. Методы определения чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам.
7. Механизмы выработки резистентности к антибактериальным препаратам у бактерий - резидентов полости рта.
8. Особенности состава микрофлоры при острых одонтогенных воспалительных процессах.
9. Особенности состава микрофлоры при хроническом одонтогенном воспалении.
10. Особенности состава микрофлоры при неодонтогенных воспалительных процессах.

План занятия:

1. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
2. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
3. Особенности состава микрофлоры при флегмонах ЧЛЮ.
4. Особенности состава микрофлоры при абсцессах ЧЛЮ.
5. Преимущества и недостатки важнейших методов определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
6. Показания и противопоказания к применению антибиотиков при заболеваниях ЧЛЮ.
7. Механизм выработки устойчивости к антибиотикам у бактерий.

Самостоятельная работа студентов:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала из десневого желобка и патологических десневых карманов для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Микроскопическое исследование демонстрационных мазков из содержимого глубоких пародонтальных карманов. Окраска по Граму.
3. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур "пародонтопатогенных" анаэробных бактерий:
 - а) мазок из чистой культуры *Prevotella melaninogenica*, окраска по Граму;
 - б) мазок из чистой культуры *Actinomyces naeslundii*, окраска по Граму.
4. Разобрать бактериологический метод исследования гнойного экссудата с использованием техники анаэробного культивирования (демонстрация микроанаэрозола, транспортной среды, некоторых сред: тиогликолевая среда, среда с геминем, сердечно-мозговой агар и бульон и др.)
5. Разобрать схему патогенеза воспалительного процесса и зарисовать.
6. Провести бактериологическое исследование материала от больного одонтогенной инфекцией (1-й этап исследования).
7. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

1. Особенности забора исследуемого материала при заболеваниях пародонта.

Для микроскопического исследования содержимое пародонтальных карманов собирают с помощью кюретажной ложечки или целлулоидной пластины. С внутренней стороны пластины - прилипают микробы находящиеся на поверхности корневой части зуба, а с наружной — находящиеся в десневой жидкости.

Для бактериологического исследования содержимое пародонтальных карманов необходимо поместить в транспортную питательную среду с целью сохранения жизнеспособности анаэробных бактерий. В случае исследования суб-гингивальной зубной бляшки, извлеченной из пародонтального кармана, ее необходимо дезинтегрировать перед посевом с помощью ультразвука. Дальнейшее выделение чистых культур, их культивирование и идентификацию проводят в анаэробных условиях по классической

схеме.

2. При микроскопическом исследовании содержимого пародонтального кармана в демонстрационных препаратах выявляют морфологические формы характерные для основных пародонтопатогенных видов - актиномицетов, стрептококков, бактероидов, фузобактерий и спирохет.

3. Детальное изучение морфологии пародонтопатогенных видов бактерий в мазках из чистых культур. Окраска по Граму.

4. Оформление протокола исследований

Таблица. Забор исследуемого материала при абсцессах ЧЛО

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Патологический материал при абсцессах, флегмонах и фасциитах берут пункцией с помощью толстой иглы и доставляют в лабораторию в шприце. В процессе оперативного вмешательства материал забирают с помощью стандартного ватного тампона, который помещают в транспортную среду. Транспортные среды, благодаря особенностям своего состава, обеспечивают резкое снижение метаболизма микробов и возможность длительного сохранения их жизнеспособности (от 6 - 12 часов).

I этап бактериологического исследования - получение изолированных колоний. Обычно выполняется на чашках Петри с 5 % анаэробным гемагаром - питательной средой, которая помимо нативной крови содержит такие факторы роста анаэробных бактерий, как гемин (витамин К) и менадион. Среда является универсальной для роста большинства видов анаэробных и аэробных бактерий.

Чашки Петри с анаэробным гемагаром культивируют в анаэроостате или газбоксе при $t = 37^{\circ}\text{C}$ до 7 - 10 дней, хотя большая часть анаэробов дает хороший рост колоний уже на 3 - 4 день. При макроскопическом и микроскопическом изучении выросших колоний проводят сопоставление морфологии самих бактерий и колоний, которые они формируют при выращивании в анаэроостате и полученных на 5 % кровяном агаре в аэробных условиях.

Принципиальное значение для дальнейшей идентификации имеет проведение теста на наличие каталазы: материал колонии смешивают на предметном стекле с каплей 0,5 % перекиси водорода - активное образование пузырьков газа свидетельствует о наличии у данного микроба фермента каталазы, что обычно характерно для факультативно - анаэробных бактерий. Основные виды облигатно - анаэробных бактерий каталазу не продуцируют.

II этап бактериологического исследования - получение чистой культуры. Выполняется на жидких (тиогликолевая среда, среда Китта - Тароци, сердечно-мозговой бульон) или полужидких средах (с добавлением 6,5 % агар-агара). Материал из изолированной колонии переносят в пробирку с одной из указанных сред, которые затем желательно поместить в анаэроостат. Чистые культуры получают через 3 - 5 дней культивирования при $t = 37^{\circ}\text{C}$.

III этап бактериологического исследования - идентификация чистой культуры. Для определения вида выделенной культуры используется определение комплекса морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических и хемотаксономических свойств.

Результаты бактериологического исследования заносят в протокол.

острые одонтогенные воспалительные заболевания	абсцесс флегмона остеомиелит лимфаденит	бактероиды, фузобактерии, пептострептококки, пептококки, реже актиномицеты, стафилококки
хронические одонтогенные воспалительные заболевания, актиномикоз		ассоциации облигатных анаэробных бактерий с факультативными анаэробами (стафилококки, бациллы, стрептококки) аэробные и анаэробные актиномицеты (ротии, нокардии и стрептомицеты).
неодонтогенные воспалительные заболевания	фурункул нагноившаяся атерома инфицированные травмы чел.-лиц.области	преобладание стафилококков, стрептококков, реже бацилл и облигатных анаэробов, часто выделяются монокультуры

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

- Операционные раны называются условно-чистыми, если в процессе хирургического вмешательства происходит контакт инструментов с:
 - слизистой оболочкой полости рта
 - слизистой оболочкой придаточных пазух носа
 - кожей
 - гнойным экссудатом воспалительного очага
- Возбудителями ювенильного пародонтита являются:
 - лептотрихии
 - стрептококки
 - актинобациллы
 - бифидобактерии

3. Из гнойного экссудата пародонтальных абсцессов наиболее часто выделяются:
- а – превотеллы *P.intermedia*
 - б – порфиромонады *P.gingivalis*
 - в – пептострептококки *P.micros*
 - г – стафилококки *S.aureus*
4. Актиномицеты являются группой бактерий, с активизацией которых связывают развитие следующих заболеваний:
- а – флегмоны и абсцессы челюстно-лицевой области
 - б – хронические воспалительные заболевания мягких и костных тканей
 - в – возвратный афтозный стоматит
 - г – пародонтиты
5. Антибиотики группы макролидов применяют для лечения:
- а – кандидоза полости рта
 - б – лептотрихиоза слизистой
 - в – пародонтита
 - г – возвратного афтозного стоматита

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8.

Тема: Хронические очаги инфекции. Возбудители туберкулёза и проказы. Особенности диагностики и проявления инфекции в полости рта. Профилактика и лечение туберкулёза и проказы

Учебная цель:

1. Бактериальные инфекции и их проявление в полости рта (туберкулёз).

План занятия:

1. Особенности состава микрофлоры полости рта при туберкулезе.
2. Проявления туберкулеза в полости рта.
3. Особенности забора исследуемого материала при туберкулезе.
4. Методы лабораторной диагностики туберкулеза.
5. Современные методы лечения туберкулеза.

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при неспецифических заболеваниях слизистой оболочки полости рта.
3. Современные методы лечения вирусных инфекций и их проявление в полости рта.

Студент должен уметь:

1. Провести забор исследуемого материала для микроскопического и бактериологического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Проведение бактериологического метода диагностики при вирусных инфекциях и их проявлениях в полости рта.

Самостоятельная работа студентов:

1. Теоретический разбор клинических проявлений в полости рта дифтерии и туберкулёза, методов диагностики.

2. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Туберкулез слизистой оболочки полости рта и губ вызывается микобактериями туберкулеза, в основном человеческого типа, и обычно является вторичным, реже развивается первичный туберкулез слизистой оболочки полости рта в виде первичного туберкулезного комплекса. Микобактерии туберкулеза могут попадать в слизистую оболочку рта как эндогенным путем так и экзогенным.

Слизистая оболочка полости рта является плохой средой для размножения туберкулезных микобактерий; попав в слизистую оболочку у большинства больных туберкулезом, они гибнут. Если все же возникает ее поражение, то клиническая форма заболевания зависит от ряда факторов, прежде всего от общего течения туберкулезного процесса и иммунологического состояния организма, которое определяют с помощью туберкулиновых реакций. В патогенезе туберкулеза определенную роль играют характер питания, нервно-эндокринные расстройства и др.

Из форм вторичного туберкулеза при поражении слизистой оболочки рта могут наблюдаться туберкулезная волчанка, скрофулодерма и милиарно-язвенный туберкулез, причем, если две первые формы протекают обычно на фоне положительных туберкулиновых реакций, то малярийно-язвенный туберкулез возникает преимущественно на фоне анергии, т. е. на фоне отрицательных туберкулиновых реакций.

Первичный туберкулез губ и слизистой оболочки полости рта. Первичный туберкулез, или первичный туберкулезный комплекс, или первичный туберкулезный шанкр, на губах и слизистой оболочке рта встречается редко, в основном у детей. Он возникает в результате экзогенного заражения, которое происходит чаще воздушно-капельным, реже алиментарным путем. Эта форма туберкулеза может развиваться только у людей, у которых в организме нет микобактерий туберкулеза и туберкулиновые реакции отрицательные.

После инкубационного периода, продолжительность которого 8—30 дней, на месте входных ворот инфекции возникает болезненное изъязвление размером до 1—1,5 см с подрытыми неровными краями с грязно-серым дном. Дно и края язвы немного уплотнены, однако на губах уплотнение может быть значительным. Через 2—4 недели после образования язвы увеличиваются и уплотняются подчелюстные лимфатические узлы. Сначала они подвижны, а затем спаиваются между собой и с кожей. Часто через некоторое время эти узлы нагнаиваются и вскрываются.

Туберкулезная волчанка. Среди туберкулезных заболеваний слизистой оболочки рта и губ туберкулезная волчанка является наиболее частым, упорным, склонным к рецидивам, хронически текущим заболеванием. Излюбленной локализацией туберкулезной волчанки является лицо, которое поражается примерно у 75% больных, причем очень часто в процесс вовлекаются красная кайма верхней губы, на которую процесс обычно переходит с носа. Однако может быть и изолированное поражение красной каймы верхней губы.

Первичным элементом при туберкулезной волчанке является бугорок (люпома). Люпома представляет собой ограниченное, в начале плоское, величиной с булавочную головку или чуть больше красное или желтовато-красное мягкое безболезненное образование, склонное к периферическому росту и слиянию с соседними элементами. В результате слияния люпом образуются очаги поражения,

имеющие разные размеры и очертания.

Очаги волчанки на красной кайме губ и особенно на слизистой оболочке рта изъязвляются. Края образующихся при этом язв изъеденные, неправильной формы. Дно язвы покрыто либо грязно-серым налетом, либо папилломатозно разрастающимися грануляциями, иногда они напоминают яркую сочную малину. На красной кайме губ на поверхности язвы нередко образуются корки, иногда очень толстые.

На месте поражения остается поверхностная рубцовая атрофия; характерно повторное возникновение на таком рубце отдельных люпов. В местах изъязвления могут образоваться грубые, уродующие рубцы. Язвенный волчаночный процесс, хотя и редко, приводит к значительным разрушениям тканей.

Во второй стадии на фоне отека и гиперемии появляются отдельные мелкие бугорки, которые представляют собой сосочковые разрастания, покрытые слегка потускневшим эпителием. Сливаясь друг с другом, они могут напоминать бородавчатые разрастания. В последующем у большинства больных бугорки распадаются с образованием язвы, которая бывает разной величины, неправильных очертаний, часто с изъеденными, но неподрытыми краями, с грануляциями на дне и нешироким воспалительным бордюром вокруг, на фоне которого нередко можно видеть отдельные сохранившиеся бугорки, а также эрозии. В отделяемом из язв, как правило, микроскопически не удается обнаружить туберкулезные микобактерии. При завершении процесса образуются рубцы, причем если процесс протекал без изъязвления, то они гладкие, блестящие, атрофические. После изъязвления рубцы плотные, грубые, спаивают слизистую оболочку с подлежащими тканями.

Клиническая картина туберкулезной волчанки имеет некоторые особенности, связанные с локализацией процесса. По месту расположения поражения на слизистой оболочке десны различают четыре вида поражений: 1) маргинальное, охватывающее десневой край сначала в виде банальной инфильтрации и переходящее затем в бугорково-эрозивную (язвенную) форму; при этом десневой край и межзубные сосочки резко припухают, рисунок десневого края сглаживается, слизистая оболочка десен приобретает ярко-красный цвет. Десна представляется как бы истыканной булавками, безболезненна, матовая, тусклая, легко кровоточит; 2) супрамаргинальное: инфильтративное или бугорково-язвенное поражение не затрагивает десневую кайму; 3) тотальное: процесс захватывает всю наружную поверхность десен по типу инфильтративной, чаще эрозивной, а иногда и язвенной волчанки. При этой форме часто поражается костная ткань альвеолы, может развиваться «картина гипертрофического люпозного гингивита»; 4) билатеральное, протекающее по типу язвенной волчанки.

Лечение туберкулеза слизистой оболочки полости рта, являющегося одним из проявлений общего туберкулеза, проводят по общепринятым методикам лечения туберкулеза обычно в противотуберкулезных диспансерах. Наиболее эффективными средствами лечения туберкулезной волчанки являются препараты гидразид изоникотиновой кислоты (фтивазид, изониа-зид, или тубазид, салюзит, метаид, ларусан, ИНГА-17 и др.), которые оказывают на микобактерии туберкулеза не только бактериостатическое, но и бактерицидное действие.

Прогноз у больных туберкулезом слизистой оболочки полости рта в настоящее время, при наличии мощных противотуберкулезных средств, хороший, но больные должны длительное время, до полного излечения, находиться под диспансерным наблюдением. В раннем выявлении больных туберкулезом слизистой оболочки полости рта, в направлении их на лечение в противотуберкулезные учреждения, в организации диспансерного наблюдения большая роль принадлежит стоматологам. Это связано с тем, что туберкулезная волчанка и милиарно-язвенный туберкулез могут начинаться и длительно существовать только на слизистой оболочке полости рта, в связи с чем больные, естественно, обращаются к стоматологу.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Для лечения одонтогенного гайморита применяются препараты:
а – линкомицин 0,5 г 2 раза в сутки в/м
б – эритромицин 500 мг 4 раза + метронидазол 250 мг 3 раза в сутки перорально
в – гентамицин 1 г. 2 раза в сутки в/м
г – рифампицин 500 мг 2 раза в сутки перорально
2. Для ступенчатой антибактериальной терапии при тяжёлых прогрессирующих флегмонах допустимо применять:
а – далацин С в/м, затем линкомицин перорально
б – ровамицин в/м, затем спирамицин перорально
в – кларитромицин в/в, затем рулид перорально
г – канамицин в/м, затем цефалексин перорально
3. Компонентами развития одонтогенного воспаления являются:
а – выход микробов за пределы их экологической ниши в полости рта
б – токсинемия
в – нарушение местной циркуляции
г – инвазия микробов в ткани из окружающей среды
4. При микробиологической диагностике пародонтита производят:
а – забор материала в транспортную систему
б – количественную оценку разных видов колоний при посеве на желточно-солевой агар
в – количественную оценку разных видов колоний при посеве на кровяной гемин-агар
г – определение чувствительности к антибиотикам выделенных культур
д – ПЦР-диагностику
5. Этиологическими факторами одонтогенной инфекции являются:
а – вытеснение нормальной анаэробной флоры вирулентными аэробами, например, синегнойной палочкой
б – снижение редокс-потенциала тканей и активизация анаэробов
в – попадание спор анаэробных клостридий в рану из окружающей среды
г – нарушение микроциркуляции в тканях при травме.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9.

Тема: Микробиологическая диагностика дисбиоза полости рта и стоматитов. Дисбиозы и оппортунистические стоматиты. Оппортунистические процессы как проявления иммунодефицитов и ВИЧ-инфекции. Лабораторная диагностика кандидоза, лептотрихиоза, фузоспирохетоза.

Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.
3. Бактериальные инфекции и их проявление в полости рта (гонококковый гингивостоматит).
4. Освоить методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.

5. Освоить методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при неспецифических заболеваниях слизистой оболочки полости рта

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при неспецифических заболеваниях слизистой оболочки полости рта.
3. Современные методы лечения вирусных инфекций и их проявление в полости рта.

Студент должен уметь:

1. Провести забор исследуемого материала для микроскопического и бактериологического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Проведение бактериологического метода диагностики при вирусных инфекциях и их проявлениях в полости рта.

План занятия:

1. Особенности забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.
3. ВИЧ-инфекция. Проявления в полости рта.
4. Кандидоз. Лабораторная диагностика кандидоза.
5. Лептотрихоз. Лабораторная диагностика.
6. Фузоспериохитоз. Лабораторная диагностика.

Самостоятельная работа студентов:

1. Теоретический разбор клинических проявлений в полости хейлитов, глосситов, стоматитов, ВИЧ-инфекции, методов диагностики.
2. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Вирусы являются наиболее частой причиной инфекционных заболеваний (корь, эпидемический паротит, краснуха, грипп, ветряная оспа, гепатит, СПИД и др.).

Другой вирус, для которого парентеральный путь передачи также может быть основным, - это вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус ВИЧ поражает лимфоциты (Т-хелперы) и макрофаги. При длительной репродукции вируса в организме популяции хелперов сокращается, в пораженных макрофагах снижается выработка интерлейкина-1. Кроме иммунной системы страдают другие органы и системы: нервная система, органы пищеварения и дыхания, сердечно-сосудистая система и др. На фоне иммунодефицита развивается саркома Капоши и оппортунистические болезни (кандидомикоз, язвенно-некротический стоматит, цитомегаловирусная инфекция, герпес, пневмоцистоз).

Источниками вируса являются больные и вирусоносители. Возможен парентеральный путь заражения при использовании инфицированной вирусом крови при различных хирургических вмешательствах, переливании крови и пр., а также при половом контакте. Зарегистрированы случаи заражения плода во внутриутробном периоде.

Диагностика проводится главным образом серологическим методом, путем выявления антител с помощью иммуноферментного анализа.

Таким образом, пришедшие на прием пациенты с кандидомикозом, рецидивами герпеса, язвенно-некротическим поражением должны быть обязательно проверены

на заражение ВИЧ. Особую опасность представляют больные группы риска - гомосексуалисты, проститутки, наркоманы, больные, которым часто переливали кровь (гемофилия).

Врач - стоматолог может заразиться вирусом от пациента воздушно -капельным путем и при пальцевом обследовании, также как и сам врач при своих манипуляциях может заразить больного (гепатит В, СПИД).

Дополнительно необходимо отметить, что примерно около 46 % пациентов на приеме могут быть носителями в полости рта *Streptococcus ruogeus*, *Staphul. aureus*. Они могут явиться причиной развития у врача различных респираторных заболеваний, а также вызвать воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая то, что многие из стафилококков являются антибиотико - резистентными, попадание этих микробов может затруднить процесс лечения.

Лепра

Лепра (проказа) вызывается лепрозными микобактериями Ганзена и представляет собой хроническую генерализованную инфекцию, развивающуюся преимущественно в дериватах эктодермы и в органах и тканях, богатых элементами активной мезенхимы. Лепра протекает хронически-прогрессивно с периодическими обострениями (лепрозные реакции), приводя при отсутствии рационального лечения к тяжелой инвалидности и через много лет к смерти.

Выделяют туберкулоидный и лепроматозный типы лепры. Возникновение того или иного типа заболевания связано с состоянием сопротивляемости организма человека к лепрозной инфекции, которое определяют с помощью лепроминовой кожной пробы. Поражения слизистой оболочки полости рта могут возникнуть лишь при лепроматозном типе, который развивается у лиц с резко пониженной реактивностью (лепроминовая проба отрицательная). У таких больных на коже, слизистой оболочке рта, внутренних органов, по ходу нервных стволов возникают лепроматозные инфильтраты с лепрозными клетками, не способными (в отличие от туберкулоидного типа) разрушать фагоцитированные ими палочки Ганзена, поэтому они беспрепятственно размножаются в этих клетках.

Лепрозный процесс на слизистой оболочке рта начинается с инфильтративной стадии, затем на этом фоне возникают бугорковые высыпания, которые через некоторое время изъязвляются. Процесс заканчивается рубцеванием. Очень часто на слизистой оболочке рта у одного и того же больного можно наблюдать элементы, характерные для всех четырех стадий развития лепрозного поражения слизистой оболочки, т. е. инфильтрацию, бугорки, язвы и рубцы. Клиническая картина лепрозного поражения слизистой оболочки рта отличается полиморфизмом, каждая из четырех стадий характеризуется описываемыми признаками.

Лепрозные изменения слизистой оболочки рта начинаются с образования поверхностного ограниченного инфильтрата, слегка возвышающегося над окружающей слизистой оболочкой и имеющего серовато-белый цвет, иногда с темно-синими участками. Затем на инфильтрированных участках возникают бугорки различной величины — от просяного зерна до вишневой косточки. Вначале бугорки плотноватые, затем размягчаются. Они расположены бессистемно и склонны к периферическому росту и слиянию. Бугорки большей частью матово-розового, иногда серовато-розового цвета. Их поверхность обычно блестящая. Чаще всего бугорки возникают на твердом и мягком небе, языке и губах. Через некоторое время бугорки обычно изъязвляются. Язвы на месте бугорков вначале небольшие, дно их бугристое, грязно-серо-белого цвета, края неровные, припухшие, мягкой консистенции. Иногда язвенный процесс распространяется на костную ткань, вызывая ее расплавление. Чаще всего при этом разрушается альвеолярный край челюсти. В последующем язвы рубцуются, однако рубцы могут развиваться без предшествующего изъязвления бугорков, когда бугорок или инфильтрат слизистой оболочки рта фиброзируются. Образование рубцов еще не

означает выздоровление, ибо одновременно могут возникать новые инфильтраты, бугорки и язвы. Лепрозные рубцы на слизистой оболочке полости рта могут быть круглые или в виде полос — лучистые. Рубцы гладкие, блестящие, белого цвета. Образовавшиеся рубцы в зависимости от их размеров и места расположения могут вызвать функциональные расстройства. Особенно часто деформируется мягкое небо и язычок, который может сместиться, а иногда даже исчезнуть.

Лепрозные поражения могут возникать и на губах. При этом очень часто образуется выраженный инфильтрат, сопровождающийся отеком, что влечет за собой образование лепрозного элевантиаза. Губа уплотняется, становится более толстой, валикообразной и малоподвижной. Кожа губ и красная кайма по цвету мало отличаются друг от друга. На этом фоне возникают хорошо контурированные бугорки.

Лепрозные изменения на внутренней поверхности губ начинаются с диффузной эритемы, затем возникает инфильтрация, имеющая вид синюшных пятен, покрытых утолщенным эпителием. На этом фоне иногда возникают бугорки, которые почти не выступают над слизистой оболочкой. Лепрозные бугорки на губах могут долгое время оставаться без изменения, но иногда они изъязвляются. Образующиеся неглубокие безболезненные язвы расположены на поверхности бугорков. Их отделяемое засыхает в светло-желтые корки.

Язвенное поражение слизистой оболочки губ всегда заканчивается рубцеванием с деформацией губ, в результате чего губа становится тоньше, ротовое отверстие может сузиться. Если же глубоко расположенные бугорки фиброзируются, то губа сморщивается, вследствие чего затрудняется речь, кожа губ в этих случаях бывает испещрена бороздами, а красная кайма губ становится морщинистой. Лепрозные изменения слизистой оболочки губ редко доходят до переходной складки.

Излюбленной локализацией лепрозных высыпаний являются десны на верхней челюсти со стороны языка в области фронтальных, реже коренных зубов. Лепрозные изменения на деснах начинаются с образования инфильтрата. Десны как бы набухают, делаются рыхлыми, красными, иногда цианотичными, слегка кровоточат; десневые сосочки припухают, рисунок десневого края сглаживается. Очень часто к этому присоединяется усиленное слюнотечение. Вскоре слизистая оболочка десны становится матовой, на ее поверхности образуются язвочки, которые затем рубцуются, что приводит к сморщиванию десневого края и завороту его внутрь. Десны ретрагируются, корни зубов обнажаются. Одновременно с рубцеванием на других участках десен может появиться свежий инфильтрат. Характерна безболезненность процесса.

Лепрозные изменения на слизистой оболочке твердого неба происходят следующим образом: в тех случаях, когда поражение начинается на передней трети, вначале отмечается инфильтративная стадия, инфильтрат образуется позади шеек центральных резцов и доходит до клыков. Участок инфильтрированной слизистой оболочки по направлению назад суживается и чаще заканчивается у начала средней трети твердого неба, в результате чего образуется треугольник, основанием обращенный вперед, а вершиной назад. Значительно реже инфильтрат по направлению назад суживается до полоски шириной 2 см и по средней линии распространяется до мягкого неба. Инфильтрат на боковых поверхностях твердого неба наблюдается крайне редко. Инфильтрированный участок большей частью имеет серовато-красный цвет и совершенно безболезнен. Затем на инфильтрированных участках возникают серовато-белые бугорки величиной с просынное зерно, которые впоследствии поверхностно изъязвляются.

На мягком небе поражение начинается с гиперемии, переходящей в инфильтрат темной окраски. Иногда мягкое небо вначале имеет бледно-желтый цвет. Язычок обычно инфильтрируется, размеры его увеличиваются. На инфильтрированных участках мягкого неба и язычка появляются беловато-серые, фокусно расположенные бугорки различной величины — от просынного зерна до горошины. Затем бугорки

распадаются и образуются язвочки. Иногда отдельные язвочки сливаются, образуя большей или меньшей величины сплошные язвенные поверхности. Края язв слегка приподняты и подрыты, дно бугристое с сероватым налетом. Цвет их грязно-серовато-белый. Вследствие язвенного поражения обычно разрушается часть или весь язычок. Язвенный процесс на твердом и мягком небе заканчивается рубцеванием. Образующиеся рубцы имеют разнообразную форму: иногда они круглые, но чаще лучистые или звездчатые. Рубцы обычно блестящие, поверхностные, беловатого цвета.

Рубцовое стяжение на твердом небе вблизи шеек передних зубов ведет к сморщиванию десны и ретракции ее с обнажением корней зубов. Края ретрагированной десны заворачиваются внутрь в сторону корней, плотно обхватывая их. Рубцы на мягком небе иногда образуют дугу, выпуклой частью обращенную вперед. Фиброзирование в области мягкого неба часто вызывает стойкие деформации, из-за чего мягкое небо может подтягиваться кверху, суживая вход в носоглотку. Иногда мягкое небо совершенно разрушается.

Излюбленной локализацией лепрозных элементов на языке является средняя линия его спинки, начиная от корня и до кончика. Язык может инфильтрироваться, увеличиваться, утолщаться, в результате чего его подвижность затрудняется и речь становится малопонятной. На инфильтрированной поверхности спинки языка появляются плотные бугорки различной величины, но не больше боба, с плоской поверхностью и широким основанием. Поверхность бугорков блестящая, покрыта беловатым налетом благодаря слущиванию эпителия («серебряный» язык). Число бугорков может увеличиваться, и они могут сливаться (лепрозный глоссит), в результате чего на спинке языка образуются валикообразные возвышения с глубокими бороздами между ними.

Бугорки на языке склонны к распаду и изъязвлению. Образовавшиеся язвы располагаются поверхностно и имеют зубчатые, подрытые, инфильтрированные края. Дно язв неглубокое, шероховатое, покрыто сероватым налетом. В некоторых случаях эти язвы сливаются, образуя сплошную язвенную поверхность, покрытую тонким серым налетом. Возникающие на месте язв различной формы поверхностные рубцы обычно имеют серовато-белый цвет и блестящую поверхность.

Для диагностики лепры применяют бактериоскопические исследования соскоба со слизистой оболочки носовой перегородки, а также со дна и краев лепрозных язв, в которых легко обнаруживают палочки Ганзена.

Лепрозное поражение слизистой оболочки полости рта может напоминать третичный сифилис и туберкулезную волчанку. От проявления туберкулезной волчанки и колликувативного туберкулеза лепрозные высыпания отличаются большей плотностью, наличием выраженных расстройств чувствительности и лепрозных микобактерий в отделяемом изъязвившихся элементов.

Наиболее эффективными противолепрозными средствами являются препараты сульфонового ряда, такие, как диамино-дифинил-сульфон (ДС), авлосульфон, дапсон, сульфетрон (солюссульфон, новотроп), которые принимают в течение длительного времени. Такое же действие, как сульфоны, оказывает менее токсичный препарат тиокарбонилд (производное тиомочевины). Не потеряли значение чаулмугровое масло и его производные, в частности этиловые эфиры и мутроль. В целях успешного лечения больных лепрой всегда следует применять комбинированную терапию всеми известными антилепрозными средствами в сочетании с общеукрепляющими препаратами и физиотерапией.

Прогноз при лепре в последние десятилетия в связи с введением в практику лечения этого заболевания новых, достаточно эффективных препаратов стал лучше. Основным мероприятием общественной профилактики лепры является раннее выявление и быстрая изоляция больных лепрой в специальные учреждения — лепрозории, где больные лечатся, живут и работают. При обнаружении больного или подозрительного на заболевание лепрой врач немедленно должен сообщить об этом органам здравоохранения. При подтверждении

диагноза лепры больной с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных инструкцией Народного Комиссариата путей сообщения — Народного Комиссариата здравоохранения от 19/IV 1944 г., должен быть доставлен в лепрозорий.

В зависимости от локализации воспалительного процесса поражение слизистой оболочки полости рта называется различно: стоматит (слизистая щек), глоссит (язык), гингивит (десны), хейлит (губы). Стоматиты обычно являются либо следствием различных дистрофических процессов в организме, инфекционных или соматических заболеваний, либо результатом повреждающего физического или химического воздействия на слизистую при вторичной роли резидентной микрофлоры. При поверхностных катаральных стоматитах обычно обнаруживают Гр + аэробные кокки и палочки, при глубоких стоматитах преобладает строго анаэробная Гр - флора (фузобактерии, бактероиды, пептострептококки).

При язвенно-некротических стоматитах преобладает анаэробная флора, преимущественно фузобактерии и спирохет, однако могут присутствовать и другие микроорганизмы (вейллонеллы, пептострептококки, бактероиды, вибрионы, актиномицеты). К фузоспирохетозам также относят язвенно - некротическую ангину Венсана, ангину Людвига, гангрену легкого, язвенный колит и др.).

В последние годы отмечается рост заболеваемости кандидомикозом. Это связано с широким применением антибиотиков, кортикостероидов, цитостатиков. Длительное их применение приводит к нарушению состава нормальной микробной флоры (дисбактериоз). Грибы кандиды являются резидентом слизистых оболочек полости рта, пищеварительного тракта, дыхательных путей, влагалища, кожных покровов.

Процесс взаимоотношения дрожжевых клеток с эпителиальными клетками слизистой оболочки рта начинается с их адгезии. Сахароза, мальтоза, глюкоза и другие углеводы повышают активность адгезии. Адгезивность дрожжеподобных грибов рода *Candida* во многом определяет их вирулентность.

Система комплемента, которая активизируется маннаном клеточной стенки дрожжей, ингибирует их адгезию. Дрожжеподобные грибы способствуют разрушению зубной эмали и развитию кариеса. Кариозные зубы, в которых вегетируют дрожжевые клетки, можно рассматривать, как своеобразную экологическую нишу-, благодаря которой они могут участвовать в развитии микотических тонзиллитов и стоматитов. Местные проявления кандидоза или первичный кандидоз в полости рта протекает в форме острого псевдомембранозного кандидоза (молочницы), острого или хронического кандидоза и гиперпластического кандидоза.

Гонококковый стоматит

Гонококковое поражение слизистой оболочки полости рта — гонококковый стоматит — встречается редко. Заболевание возникает у новорожденных при попадании гонококков в полость рта ребенка во время родов при прохождении через инфицированные родовые пути матери. Возможно занесение инфекции от ухаживающего персонала и других больных. Обычно наблюдается одновременное поражение гонококком слизистой оболочки рта, носа и конъюнктивы. Гонококковый стоматит наблюдали также у взрослых (Besionck, Janet и др.). Гонококковые стоматиты встречаются чаще, чем принято считать, но они остаются нераспознанными, потому что, во-первых, осмотр полости рта и носа у большинства больных гонореей не производят, во-вторых, стоматологи и отоларингологи, к которым чаще всего обращаются больные, незнакомы с этим заболеванием, и, в-третьих, гонорейный стоматит чаще протекает без субъективных ощущений, склонен к самоизлечению, и больные исчезают из-под наблюдения врачей.

В последние годы возросло количество сообщений о выявлении экстра-генитальной гонореи у взрослых. При этом чаще поражаются глотка и миндалины, реже встречается стоматит, гингивит, ларингит. Поражение слизистой оболочки рта выявляется главным образом у мужчин-гомосексуалистов и лиц, имевших орорегенитальные контакты.

Течение гонореи слизистой оболочки полости рта и глотки, как правило, асимптомное. У детей акт сосания при этом не нарушен. У взрослых больных в редких случаях отмечается боль в горле, повышается температура тела. Первые симптомы гонококкового стоматита — гиперемия, отек, небольшие эрозии на слизистой оболочке и вязкий слизисто-гнойный более или менее обильный секрет. В более тяжелых случаях при отсутствии лечения процесс может распространяться, появляется большое количество эрозий и язв на слизистой оболочке щек, языка, десен. Язвочки поверхностные, небольших размеров, с неправильными, неподрытыми или мало подрытыми краями, мягкие, малоболезненные, с необильным желто-серым отделяемым, в котором обнаруживают гонококки, что подтверждает диагноз.

Гистологически определяется воспалительный процесс в подэпителиальной соединительной ткани с инфильтрацией лимфоцитами, нейтрофилами, плазматическими клетками.

Лечение гонорейного стоматита проводят антибиотиками в тех же дозах, что и гонорейного поражения мочеполовых органов. Местно назначают полоскания 0,01—0,1 % раствором перманганата калия.

Профилактика гонорейного стоматита у новорожденных, родившихся от матерей, больных гонореей, состоит в обработке слизистой оболочки рта новорожденных тотчас после рождения 2% раствором нитрата серебра. У взрослых больных, страдающих гонореей мочеполовых органов, следует осматривать слизистые оболочки полости рта и глотки, при показаниях проводят исследование отделяемого на гонококк

Лабораторный диагноз осуществляется путем использования следующих методов:

1. Микроскопическое исследование (световое, люминесцентное) патологического материала (налета, кусочков органов и т.д.) и обнаружение молодого или зрелого псевдомонии.

2. Бактериологическое исследование - посев материала на среду Сабуро, томатный бульон и рисовый агар с идентификацией выделенной культуры.

3. Серологический метод - постановка реакций агглютинации и связывания комплемента с сывороткой крови больного с целью обнаружения антител.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. На второй стадии заболевания сифилисом применяют методы диагностики:

- а) бактериоскопический
- б) бактериологический
- в) серологический
- г) биологический

2. Установите соответствие морфологии и окраски с группой анаэробных бактерий:

а – спорообразующие Грам+ палочки	1. Клостридии.
б – неспорообразующие Грам+ палочки	2. Пептострептококки.
в – неспорообразующие Грам+ кокки	3. Эубактерии.
г – неспорообразующие Грам- палочки	4. Бактероиды.

3. Практическое применение реакции преципитации:

- а. серодиагностика брюшного тифа – реакция Видаля,
- б. серодиагностика сифилиса – осадочные реакции Кана и Закса-Витебского,
- в. серодиагностика бруцеллёза – реакция Райта, Хеддельсона,,
- г. сероидентификация стрептококков по Ленсфилд.
- д. индикация АГ сибирской язвы по Асколи.

4. Рокситромицин (рулид) для периперационной профилактики назначают в дозе:

- а – 100 мг, внутривенно за 60 мин
- б – 150 мг, внутримышечно за 30 мин

в – 150 мг, перорально за 30-60 мин

г – 300 мг, перорально за 2 часа

5. При дезинфекции изделий медицинского назначения кипячением в дистиллированной воде с 2% двууглекислым натрием (содой) время экспозиции составляет:

а - не менее 5 минут

б - не менее 10 минут

в- не менее 15 минут

г – не менее 30 минут

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10.

Тема: Инфекционные стоматиты и диагностика проявлений бактериальных и вирусных инфекционных болезней в полости рта. Лабораторная диагностика дифтерии, гонореи, сифилиса. Профилактика и лечение.

Лабораторная диагностика герпетических, коксаки- и эхо-вирусных стоматитов. Принципы профилактики.

Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе причины их возникновения.
3. Освоить методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе.
4. Освоить методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе.

План занятия:

1. Инфекционные стоматиты. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика.
2. Дифтерия. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
3. Гонорея. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
4. Сифилис. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
5. Герпес. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.

Студент должен знать:

1. Методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при неспецифических заболеваниях слизистой оболочки полости рта.
3. Современные методы лечения вирусных инфекций и их проявление в полости рта.

Студент должен уметь:

1. Провести забор исследуемого материала для микроскопического и бактериологического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
2. Проведение бактериологического метода диагностики при вирусных инфекциях и их проявлениях в полости рта.

Самостоятельная работа студентов:

1. Теоретический разбор клинических проявлений в полости дифтерии, гонореи, сифилиса, герпеса, методов диагностики.

2. Оформление протокола исследования.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Сифилис — хроническое инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой. Сифилис характеризуется весьма своеобразным течением: во-первых, волнообразной сменой активных проявлений и периодов скрыто протекающей инфекции; во-вторых, постепенным и последовательным изменением клинической и патологоанатомической картины поражений органов и тканей от слабовыраженных воспалительных явлений до образования специфических глубоких инфекционных гранулем, сдавливающих и разрушающих органы и ткани, в которых они локализуются, что приводит к потере функции органа, а иногда и к смерти больного.

Различают приобретенный и врожденный сифилис. Врожденный сифилис возникает при попадании бледной трепонемы в организм плода через плаценту от больной сифилисом матери. Для заражения человека сифилисом необходимо проникновение бледной трепонемы через кожу или слизистую оболочку, целостность которой нарушена.

Обычно заражение происходит половым путем. Внеполовое заражение может быть профессиональным, например, у медицинских работников во время операций, вскрытий, стоматологического или гинекологического осмотра и т.д., или произойти при пользовании общей посудой, губной помадой, мундштуками и др.

В связи с волнообразным течением сифилиса, разным характером клинических и морфологических изменений, возникающих на различных этапах заболевания, различают инкубационный, первичный, вторичный и третичный периоды приобретенного сифилиса, а также скрытый, в том числе неведомый, висцеральный сифилис и сифилис нервной системы.

Инкубационный период сифилиса в среднем равен 3—4 нед., однако возможно как его укорочение (до 10—12 дней), так и удлинение (до 6 мес), которое обычно связано с приемом во время инкубации небольшого количества антибиотиков по поводу интеркуррентных заболеваний или гонореи.

Первичный период сифилиса начинается с возникновения на месте заражения, т.е. внедрения бледной трепонемы, твердого шанкра (первичная сифилома). Первичный период длится 6—7 нед. Спустя 5—7 дней после образования твердого шанкра появляется второй непереносимый симптом первичного периода — увеличиваются регионарные лимфатические узлы (бубон, или регионарный склераденит). В этих узлах происходит бурное размножение трепонемы. Из лимфатических узлов по лимфатическим путям уже в начале первичного периода трепонемы попадают в кровь, в ответ на это постепенно начинают вырабатываться антитела, которые в конце 3-й недели первичного периода сифилиса можно определить в крови с помощью классических серологических реакций (реакция Вассермана, осадочные реакции), несколько раньше — с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ), а несколько позднее — и с помощью реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ, или РИТ).

Примерно у 20% больных к концу первичного периода сифилиса развиваются общие симптомы (повышение температуры тела до 38—38,5°C, слабость, головная боль, боли в костях, особенно по ночам), в периферической крови наблюдаются небольшая анемия, лейкоцитоз, увеличение СОЭ. Спустя 4—6 дней на этом фоне на коже туловища, а нередко и на слизистой оболочке полости рта появляется сыпь, что свидетельствует об окончании первичного и начале вторичного периода сифилиса.

Слизистая оболочка полости рта и красная кайма губ являются локализацией сифилитических высыпаний во всех стадиях заболевания, в том числе и при первичном сифилисе. При внеполовых заражениях локализация шанкра на губах и слизистой оболочке полости рта встречается наиболее часто. Твердый шанкр может возникнуть на любом участке красной каймы губ или слизистой оболочки полости рта, но чаще всего он локализуется на губах, языке, миндалинах.

Развитие твердого шанкра на губе или слизистой оболочке полости рта, как и на других местах, начинается с появления ограниченной красноты, в основании которой в течение 2—3 дней возникает уплотнение за счет воспалительного инфильтрата. Это ограниченное уплотнение постепенно увеличивается и достигает обычно 1—2 см в диаметре. В центральной части поражения происходит некроз и образуется эрозия мясо-красного цвета, реже — язва. Достигнув полного развития в течение 1—2 нед, твердый шанкр на слизистой оболочке обычно представляет собой круглую либо овальную безболезненную эрозию мясо-красного цвета или язву с блюдцеобразными краями размером от 3 мм (карликовые шанкры) до 1,5 см в диаметре с плотноэластическим инфильтратом в основании. В соскобе поверхности шанкра легко обнаруживаются бледные трепонемы. Иногда эрозии покрыты серовато-белым налетом. При расположении шанкра на губах иногда образуется значительный отек, вследствие которого губа отвисает, а шанкр держится дольше, чем на других местах. Чаще развивается один твердый шанкр, реже — два и более. Если присоединяется вторичная инфекция, то эрозия может углубляться, при этом образуется язва с грязно-серым некротическим налетом.

На языке твердый шанкр обычно бывает одиночным, возникает чаще в средней трети. Помимо эрозивной и язвенной форм, у лиц со складчатым языком, при локализации твердого шанкра вдоль складок может возникнуть щелевидная форма. При расположении твердого шанкра на спинке языка из-за значительного инфильтрата в основании шанкр обычно резко выступает над окружающей тканью, на его поверхности имеется мясо-красная эрозия. Обращают на себя внимание отсутствие воспалительных явлений вокруг шанкра и его безболезненность.

Твердый шанкр в области десен имеет вид ярко-красной гладкой эрозии, которая в виде полулуния окружает один-два зуба. Язвенная форма твердого шанкра десны очень сходна с банальным изъязвлением и почти не имеет каких-либо признаков, характерных для первичной сифиломы. Диагностику облегчает наличие бубона в подчелюстной области.

При локализации на миндалинах твердый шанкр может иметь одну из трех форм: язвенную, ангиноподобную (амигдалит) и комбинированную — язвенную на фоне ангиноподобной. Поражается миндалина на одной стороне. При язвенной форме миндалина увеличена, плотная, на этом фоне наблюдается мясо-красная овальная язва с пологими ровными краями. Слизистая оболочка вокруг язвы гиперемирована. Процесс сопровождается болевыми ощущениями, иногда значительными. При ангиноподобном шанкре эрозия или язва отсутствует, имеется одностороннее значительное увеличение миндалины. Она приобретает медно-красный цвет, безболезненная, плотная. Процесс отличается от ангины односторонностью поражения, отсутствием болей и острой воспалительной гиперемии. Общих явлений нет, температура тела нормальная.

Шанкр на губах следует дифференцировать от простого пузырькового лишая, при котором в отличие от сифилиса высыпаниям предшествует жжение или зуд, эрозия располагается на гиперемированном, слегка отечном основании и имеет микрополициклические очертания. Кроме того, при пузырьковом лишае эрозивным высыпаниям предшествуют пузырьки, которые никогда не возникают в процессе формирования шанкра. В отличие от твердого шанкра герпетические эрозии почти всегда характеризуются быстрым возникновением и быстрой эпителизацией, кроме того, герпес в отличие от твердого шанкра часто имеет рецидивирующее течение. Следует учесть, что при длительном существовании герпетической эрозии на губе в ее основании появляется инфильтративное уплотнение, что усиливает сходство эрозии с первичной сифиломой.

Вторичный период сифилиса начинается через 6—7 нед. после появления твердого шанкра, когда на фоне симптомов, свойственных первичному периоду сифилиса (твердый шанкр, регионарный склераденит, полиаденит), появляется обильная розеолезно-папулезная сыпь. Вторичный период сифилиса продолжается в течение 3—5 лет и сопровождается

положительными серологическими реакциями. Особенностью вторичного периода сифилиса является волнообразное течение, когда периоды активного проявления болезни сменяются периодами скрытого, бессимптомного течения болезни, причем продолжительность каждого из этих периодов индивидуальна (в среднем по 1,5—2 мес).

Активная стадия заболевания, развивающаяся в начале вторичного периода сифилиса вследствие генерализации инфекции, характеризуется большим количеством розеолезно-папулезных, а иногда и пустулезных высыпаний, полиаденитом, склераденитом, остатками твердого шанкра и носит название – вторичный свежий сифилис. К концу периода вторичного свежего сифилиса разрешается твердый шанкр, исчезают розеолезно-папулезные высыпания, ликвидируется регионарный склераденит и полиаденит.

Слизистая оболочка полости рта является частым местом локализации сифилидов вторичного периода, причем при вторичном рецидивном сифилисе высыпания во рту могут быть единственным клиническим проявлением болезни. Почти у половины больных с явлениями вторичного сифилиса наблюдаются поражения слизистой оболочки рта в виде розеолезных и папулезных элементов, пустулезные высыпания на слизистой оболочке рта возникают крайне редко.

Розеолезные высыпания на слизистой оболочке рта возникают симметрично на дужках, мягком небе, языке и миндалинах. Особенностью розеолезных высыпаний в этой области является то, что они сливаются в сплошные очаги поражения (эритематозная ангина). Пораженная область имеет застойно-красный цвет, иногда с медным оттенком, резкие границы. Слизистая оболочка в этой области слегка отечна; больные ощущают неловкость при глотании, болезненность, но субъективные ощущения могут и отсутствовать. Разрешение эритематозной ангины начинается с центральной части.

Наиболее частым проявлением вторичного сифилиса на слизистой оболочке рта являются папулезные высыпания. Они могут возникать в любом месте слизистой оболочки, но чаще на миндалинах, дужках, мягком небе, где нередко папулы сливаются в сплошные очаги поражения (папулезная ангина), языке, слизистой оболочке щек, особенно по линии смыкания зубов, деснах и т.д. Вид папул зависит от длительности их существования. Вначале папула - резко ограниченный темно-красный очаг размером до 1 см в диаметре с небольшим инфильтратом в основании. Спустя некоторое время образующийся в результате происходящего воспаления экссудат пропитывает покрывающий папулу эпителий, и она приобретает весьма характерный вид.

Третичный период сифилиса наблюдается далеко не у всех больных, даже если они не лечатся. Он начинается через 4—6 лет после начала заболевания в связи с изменением реактивности организма, чувствительности его к бледной трепонеме и т.д. и имеет злокачественное течение. Третичный период может продолжаться десятилетиями, характеризуется развитием воспалительных инфильтратов (гумм и бугорков), склонных к распаду и нередко вызывающих значительные деструктивные, порой несовместимые с жизнью изменения в органах и тканях. В то же время высыпания третичного сифилиса не заразны для окружающих, так как в их отделяемом отсутствуют бледные трепонемы.

В третичный период сифилиса на слизистой оболочке рта могут появиться гуммы, гуммозная диффузная инфильтрация и бугорковые высыпания. При этом слизистая оболочка может быть единственным местом клинического проявления заболевания.

Гуммозный сифилис может локализоваться в любом месте слизистой оболочки рта. Чаще гуммы образуются на мягком и твердом небе и языке. Обычно гумма появляется в единственном числе. Вначале образуется безболезненный узел, который постепенно увеличивается, а затем вскрывается. Отторгается гуммозный стержень, после чего образуется гуммозная язва. Этот процесс длится 3—4 мес, иногда сопровождаясь незначительными субъективными ощущениями. Невскрывшаяся гумма имеет плотную консистенцию, гладкую поверхность, слизистая оболочка над

узлом умеренно воспалена, она имеет застойно-красную резко ограниченную окраску. После отделения стержня гуммозная язва имеет кратерообразную форму, плотные края, безболезненна, дно ее покрыто грануляциями. Язва постепенно заживает с образованием звездчатого втянутого рубца. При локализации на небе на месте гуммы нередко образуется перфорация, сохраняющаяся после разрешения процесса.

На твердом небе гумма обычно располагается по средней линии. Вследствие того, что слизистая оболочка тонка и интимно связана с надкостницей неба, начинающийся гуммозный процесс очень быстро переходит на периост и кость. Инфильтрат гуммы быстро распадается, и обнажается кость, которая некротизируется и секвестрируется, возникает сообщение между полостями рта и носа.

Лечение больного сифилисом может быть начато только после подтверждения клинического диагноза обнаружением бледных трепонем при первичном и вторичном сифилисе или положительными серологическими реакциями. Под влиянием противосифилитического лечения высыпания быстро исчезают, причем уже через 8—10 час. после начала пенициллинотерапии бледные трепонемы не обнаруживаются на поверхности высыпаний. В связи с этим больные сифилисом через 10—12 час. после начала лечения пенициллином практически не заразны при бытовом контакте, а также при осмотре их врачами, в том числе стоматологами.

Стоматолог в своей практике может столкнуться с больным третичным сифилисом, у которого единственным проявлением заболевания могут оказаться гуммозные или бугорковые высыпания на слизистой оболочке рта. Лечение таких больных нельзя начинать с введения пенициллина, так как он вызовет реакцию обострения, которая будет стимулировать быстрое рассасывание сифилитических высыпаний, что может привести к катастрофе, даже к смерти больного, если такие высыпания локализуются в жизненно важных органах. Это связано с тем, что при таком лечении рассасывание инфильтрата произойдет за 2—3 дня, в течение которых не успеет образоваться замещающая их соединительная ткань. В связи с этим лечение больных третичным сифилисом всегда следует начинать с приема йода в течение 2—4 нед., затем вводят половину курсовой дозы препарата висмута и лишь потом пенициллин, после чего вторую половину курсовой дозы препарата висмута; второй и последующие курсы лечения начинают, как обычно, т.е. с пенициллина.

Стоматолог может встретиться с больным, который перенес третичный или поздний врожденный сифилис и у которого имеется перфорация неба, требующая пластической операции. Следует иметь в виду, что больные сифилисом после окончания лечения 5 лет находятся на диспансерном учете, в течение этого времени у них определяют излеченность сифилиса. В связи с этим пластическую операцию таким больным следует делать после снятия их с учета. Если же возникает необходимость в операции до этого срока, то оперативное вмешательство необходимо проводить под защитой пенициллина, в этом случае величину суммарной дозы препарата определяют коллегиально с венерологом, под наблюдением которого находится больной.

При лечении проявлений сифилиса в полости рта могут возникнуть осложнения, связанные с применением пенициллина и препаратов висмута. Пенициллин и его препараты могут вызвать острый аллергический медикаментозный стоматит, в связи с которым необходимо прекратить введение пенициллина, и кандидоз. Последнее осложнение у больных сифилисом не требует обязательной отмены пенициллина. Осложнениями от препаратов висмута являются висмутовая кайма, висмутовый гингивит и стоматит.

Гонорея.

Возбудителем гонореи является *Neisseria gonorrhoeae*. Это высоко контагиозное венерическое заболевание характеризуется поражением не только урогенитального тракта. Встречаются экстрагенитальные поражения: артрит, поражение полости рта и глотки. Процент последних проявлений резко возрос в связи с распространением орального секса и гомосексуализма. На губах при гонорее могут быть язвенные

поражения, десна становится отечной, воспаленной и напоминает картину язвенно - некротического гингивита. Язык, слизистая щек могут быть гиперемированны и с изъязвлением.

Вирусы являются наиболее частой причиной инфекционных заболеваний (корь, эпидемический паротит, краснуха, грипп, ветряная оспа, гепатит, СПИД и др.).

Другой вирус, для которого парентеральный путь передачи также может быть основным, - это вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус ВИЧ поражает лимфоциты (Т-хелперы) и макрофаги. При длительной репродукции вируса в организме популяции хелперов сокращается, в пораженных макрофагах снижается выработка интерлейкина-I. Кроме иммунной системы страдают другие органы и системы: нервная система, органы пищеварения и дыхания, сердечно-сосудистая система и др. На фоне иммунодефицита развивается саркома Капоши и оппортунистические болезни (кандидомикоз, язвенно-некротический стоматит, цитомегаловирусная инфекция, герпес, пневмоцистоз).

Источниками вируса являются больные и вирусоносители. Возможен парентеральный путь заражения при использовании инфицированной вирусом крови при различных хирургических вмешательствах, переливании крови и пр., а также при половом контакте. Зарегистрированы случаи заражения плода во внутриутробном периоде.

Диагностика проводится главным образом серологическим методом, путем выявления антител с помощью иммуноферментного анализа.

Таким образом, пришедшие на прием пациенты с кандидомикозом, рецидивами герпеса, язвенно-некротическим поражением должны быть обязательно проверены на заражение ВИЧ. Особую опасность представляют больные группы риска - гомосексуалисты, проститутки, наркоманы, больные, которым часто переливали кровь (гемофилия).

Врач - стоматолог может заразиться вирусом от пациента воздушно -капельным путем и при пальцевом обследовании, также как и сам врач при своих манипуляциях может заразить больного (гепатит В, СПИД).

Дополнительно необходимо отметить, что примерно около 46 % пациентов на приеме могут быть носителями в полости рта *Streptococcus ruogeus*, *Staphul. aureus*. Они могут явиться причиной развития у врача различных респираторных заболеваний, а также вызвать воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая то, что многие из стафилококков являются антибиотико - резистентными, попадание этих микробов может затруднить процесс лечения.

Лепра

Лепра (проказа) вызывается лепрозными микобактериями Ганзена и представляет собой хроническую генерализованную инфекцию, развивающуюся преимущественно в дериватах эктодермы и в органах и тканях, богатых элементами активной мезенхимы. Лепра протекает хронически-прогрессивно с периодическими обострениями (лепрозные реакции), приводя при отсутствии рационального лечения к тяжелой инвалидности и через много лет к смерти.

Выделяют туберкулоидный и лепроматозный типы лепры. Возникновение того или иного типа заболевания связано с состоянием сопротивляемости организма человека к лепрозной инфекции, которое определяют с помощью лепроминовой кожной пробы. Поражения слизистой оболочки полости рта могут возникнуть лишь при лепроматозном типе, который развивается у лиц с резко пониженной реактивностью (лепроминовая проба отрицательная). У таких больных на коже, слизистой оболочке рта, внутренних органов, по ходу нервных стволов возникают лепроматозные инфильтраты с лепрозными клетками, не способными (в отличие от туберкулоидного типа) разрушать фагоцитированные ими палочки Ганзена, поэтому они беспрепятственно размножаются в этих клетках.

Лепрозный процесс на слизистой оболочке рта начинается с инфильтративной стадии, затем на этом фоне возникают бугорковые высыпания, которые через некоторое время изъязвляются. Процесс заканчивается рубцеванием. Очень часто на слизистой оболочке рта у одного и того же больного можно наблюдать элементы, характерные для всех четырех стадий развития лепрозного поражения слизистой оболочки, т. е. инфильтрацию, бугорки, язвы и рубцы. Клиническая картина лепрозного поражения слизистой оболочки рта отличается полиморфизмом, каждая из четырех стадий характеризуется описываемыми признаками.

Лепрозные изменения слизистой оболочки рта начинаются с образования поверхностного ограниченного инфильтрата, слегка возвышающегося над окружающей слизистой оболочкой и имеющего серовато-белый цвет, иногда с темно-синими участками. Затем на инфильтрированных участках возникают бугорки различной величины — от просяного зерна до вишневой косточки. Вначале бугорки плотноватые, затем размягчаются. Они расположены бессистемно и склонны к периферическому росту и слиянию. Бугорки большей частью матово-розового, иногда серовато-розового цвета. Их поверхность обычно блестящая. Чаще всего бугорки возникают на твердом и мягком небе, языке и губах. Через некоторое время бугорки обычно изъязвляются. Язвы на месте бугорков вначале небольшие, дно их бугристое, грязно-серо-белого цвета, края неровные, припухшие, мягкой консистенции. Иногда язвенный процесс распространяется на костную ткань, вызывая ее расплавление. Чаще всего при этом разрушается альвеолярный край челюсти. В последующем язвы рубцуются, однако рубцы могут развиваться без предшествующего изъязвления бугорков, когда бугорок или инфильтрат слизистой оболочки рта фиброзируются. Образование рубцов еще не означает выздоровление, ибо одновременно могут возникать новые инфильтраты, бугорки и язвы. Лепрозные рубцы на слизистой оболочке полости рта могут быть круглые или в виде полос — лучистые. Рубцы гладкие, блестящие, белого цвета. Образовавшиеся рубцы в зависимости от их размеров и места расположения могут вызвать функциональные расстройства. Особенно часто деформируется мягкое небо и язычок, который может сместиться, а иногда даже исчезнуть.

Лепрозные поражения могут возникать и на губах. При этом очень часто образуется выраженный инфильтрат, сопровождающийся отеком, что влечет за собой образование лепрозного элевантиаза. Губа уплотняется, становится более толстой, валикообразной и малоподвижной. Кожа губ и красная кайма по цвету мало отличаются друг от друга. На этом фоне возникают хорошо контурированные бугорки.

Лепрозные изменения на внутренней поверхности губ начинаются с диффузной эритемы, затем возникает инфильтрация, имеющая вид синюшных пятен, покрытых утолщенным эпителием. На этом фоне иногда возникают бугорки, которые почти не выступают над слизистой оболочкой. Лепрозные бугорки на губах могут долгое время оставаться без изменения, но иногда они изъязвляются. Образующиеся неглубокие безболезненные язвы расположены на поверхности бугорков. Их отделяемое засыхает в светло-желтые корки.

Язвенное поражение слизистой оболочки губ всегда заканчивается рубцеванием с деформацией губ, в результате чего губа становится тоньше, ротовое отверстие может сузиться. Если же глубоко расположенные бугорки фиброзируются, то губа сморщивается, вследствие чего затрудняется речь, кожа губ в этих случаях бывает испещрена бороздами, а красная кайма губ становится морщинистой. Лепрозные изменения слизистой оболочки губ редко доходят до переходной складки.

Излюбленной локализацией лепрозных высыпаний являются десны на верхней челюсти со стороны языка в области фронтальных, реже коренных зубов. Лепрозные изменения на деснах начинаются с образования инфильтрата. Десны как бы набухают, делаются рыхлыми, красными, иногда цианотичными, слегка кровоточат; десневые сосочки припухают, рисунок десневого края сглаживается. Очень часто к этому

присоединяется усиленное слюнотечение. Вскоре слизистая оболочка десны становится матовой, на ее поверхности образуются язвочки, которые затем рубцуются, что приводит к сморщиванию десневого края и завороту его внутрь. Десны ретрагируются, корни зубов обнажаются. Одновременно с рубцеванием на других участках десен может появиться свежий инфильтрат. Характерна безболезненность процесса.

Лепрозные изменения на слизистой оболочке твердого неба происходят следующим образом: в тех случаях, когда поражение начинается на передней трети, вначале отмечается инфильтративная стадия, инфильтрат образуется позади шеек центральных резцов и доходит до клыков. Участок инфильтрированной слизистой оболочки по направлению назад суживается и чаще заканчивается у начала средней трети твердого неба, в результате чего образуется треугольник, основанием обращенный вперед, а вершиной назад. Значительно реже инфильтрат по направлению назад суживается до полоски шириной 2 см и по средней линии распространяется до мягкого неба. Инфильтрат на боковых поверхностях твердого неба наблюдается крайне редко. Инфильтрированный участок большей частью имеет серовато-красный цвет и совершенно безболезнен. Затем на инфильтрированных участках возникают серовато-белые бугорки величиной с просыное зерно, которые впоследствии поверхностно изъязвляются.

На мягком небе поражение начинается с гиперемии, переходящей в инфильтрат темной окраски. Иногда мягкое небо вначале имеет бледно-желтый цвет. Язычок обычно инфильтрируется, размеры его увеличиваются. На инфильтрированных участках мягкого неба и язычка появляются беловато-серые, фокусно расположенные бугорки различной величины — от просыного зерна до горошины. Затем бугорки распадаются и образуются язвочки. Иногда отдельные язвочки сливаются, образуя большей или меньшей величины сплошные язвенные поверхности. Края язв слегка приподняты и подрыты, дно бугристое с сероватым налетом. Цвет их грязно-серовато-белый. Вследствие язвенного поражения обычно разрушается часть или весь язычок. Язвенный процесс на твердом и мягком небе заканчивается рубцеванием. Образующиеся рубцы имеют разнообразную форму: иногда они круглые, но чаще лучистые или звездчатые. Рубцы обычно блестящие, поверхностные, беловатого цвета.

Рубцовое стяжение на твердом небе вблизи шеек передних зубов ведет к сморщиванию десны и ретракции ее с обнажением корней зубов. Края ретрагированной десны заворачиваются внутрь в сторону корней, плотно обхватывая их. Рубцы на мягком небе иногда образуют дугу, выпуклой частью обращенную вперед. Фиброзирование в области мягкого неба часто вызывает стойкие деформации, из-за чего мягкое небо может подтягиваться кверху, суживая вход в носоглотку. Иногда мягкое небо совершенно разрушается.

Излюбленной локализацией лепрозных элементов на языке является средняя линия его спинки, начиная от корня и до кончика. Язык может инфильтрироваться, увеличиваться, утолщаться, в результате чего его подвижность затрудняется и речь становится малопонятной. На инфильтрированной поверхности спинки языка появляются плотные бугорки различной величины, но не больше боба, с плоской поверхностью и широким основанием. Поверхность бугорков блестящая, покрыта беловатым налетом благодаря слущиванию эпителия («серебряный» язык). Число бугорков может увеличиваться, и они могут сливаться (лепрозный глоссит), в результате чего на спинке языка образуются валикообразные возвышения с глубокими бороздами между ними.

Бугорки на языке склонны к распаду и изъязвлению. Образовавшиеся язвы располагаются поверхностно и имеют зубчатые, подрытые, инфильтрированные края. Дно язв неглубокое, шероховатое, покрыто сероватым налетом. В некоторых случаях эти язвы сливаются, образуя сплошную язвенную поверхность, покрытую тонким серым налетом. Возникающие на месте язв различной формы поверхностные рубцы обычно имеют серовато-

белый цвет и блестящую поверхность.

Для диагностики лепры применяют бактериоскопические исследования соскоба со слизистой оболочки носовой перегородки, а также со дна и краев лепрозных язв, в которых легко обнаруживают палочки Ганзена.

Лепрозное поражение слизистой оболочки полости рта может напоминать третичный сифилис и туберкулезную волчанку. От проявления туберкулезной волчанки и колликувативного туберкулеза лепрозные высыпания отличаются большей плотностью, наличием выраженных расстройств чувствительности и лепрозных микобактерий в отделяемом изъязвившихся элементов.

Наиболее эффективными противолепрозными средствами являются препараты сульфонового ряда, такие, как диамино-дифинил-сульфон (ДС), авлосульфон, дапсон, сульфетрон (соллюсульфон, новотроп), которые принимают в течение длительного времени. Такое же действие, как сульфоны, оказывает менее токсичный препарат тиокарбонилд (производное тиомочевины). Не потеряли значение чаулмугровое масло и его производные, в частности этиловые эфиры и мугроль. В целях успешного лечения больных лепрой всегда следует применять комбинированную терапию всеми известными антилепрозными средствами в сочетании с общеукрепляющими препаратами и физиотерапией.

Прогноз при лепре в последние десятилетия в связи с введением в практику лечения этого заболевания новых, достаточно эффективных препаратов стал лучше. Основным мероприятием общественной профилактики лепры является раннее выявление и быстрая изоляция больных лепрой в специальные учреждения — лепрозории, где больные лечатся, живут и работают. При обнаружении больного или подозрительного на заболевание лепрой врач немедленно должен сообщить об этом органам здравоохранения. При подтверждении диагноза лепры больной с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных инструкцией Народного Комиссариата путей сообщения — Народного Комиссариата здравоохранения от 19/IV 1944 г., должен быть доставлен в лепрозорий.

Герпесы

Простой пузырьковый лишай (син. простой герпес) — это одно из самых частых заболеваний слизистой полости рта человека. Губы и слизистая оболочка рта являются излюбленной локализацией герпеса. Вирус герпеса начинает свое развитие в клеточном ядре. Попав в организм и вызвав проявления первичной герпетической инфекции, он остается в организме человека, по-видимому, в течение всей жизни в латентном состоянии или вызывает рецидивы болезни.

Герпес может возникнуть у человека один раз в жизни, а может иметь рецидивирующее течение. Рецидивы развиваются у разных людей в различные сроки и характеризуются неодинаковой интенсивностью процесса. Возникновению рецидивов способствуют многие факторы, снижающие защитные силы организма: охлаждение, перегревание, пневмонии, ангины, заболевания желудочно-кишечного тракта, менструации и пр. Чаше герпетическая инфекция проявляется в виде локального поражения, но иногда она приобретает генерализованный характер, чаще у новорожденных.

Простой пузырьковый лишай может возникнуть у людей любого возраста. Проявления герпеса могут отмечаться на коже и слизистых оболочках. Заболевание начинается с появления одного-двух, реже большего количества ограниченных очагов гиперемии, на фоне которой быстро образуются мелкие, величиной с просынное зерно или чуть больше, пузырьки. Количество пузырьков может варьировать от 2—3 до 10—15 и более. Пузырьки располагаются группами, содержат прозрачную жидкость, затем их содержимое мутнеет. Иногда в результате большого скопления жидкости мелкие пузырьки сливаются в один или два пузыря диаметром до 1,5 см. На губах через 2—3 дня жидкость высыхает в желтовато-серую корку.

Нередко пузырьки вскрываются с образованием эрозий ярко-красного цвета с полициклическими очертаниями. На слизистой оболочке полости рта отмечается более выраженная воспалительная реакция, пузырьки вскрываются в первые часы после появления. Эрозии на их месте имеют неправильные фестончатые очертания и покрываются

нежной фибринозной пленкой. Процесс на слизистой оболочке полости рта может быть ограниченным или распространенным — герпетический стоматит. Через 8—12 дней, а в некоторых случаях медленнее, происходит эпителизация эрозий. Высыпания пузырьков сопровождаются покалыванием. В отдельных случаях высыпания сопровождаются сильным отеком окружающей ткани. Общее состояние, как правило, не страдает, однако некоторые больные отмечают недомогание, мышечные боли, озноб. Температура тела может быть субфебрильной или повышаться до 38—39°C.

Разновидностью простого герпеса является рецидивирующий герпес. Рецидивы возникают с различной частотой, в разное время и вне зависимости от сезона. У некоторых больных рецидивы отмечаются 3—4 раза в месяц, заболевание фактически принимает перманентное течение. Рецидивирующий герпес по клиническим проявлениям не отличается от простого герпеса.

Острый герпетический стоматит. До последнего времени в отечественной литературе по стоматологии и педиатрии описывали два самостоятельных заболевания: острый афтозный и острый герпетический стоматиты. Клинико-лабораторное обследование большой группы больных с использованием арсенала современных вирусологических, серологических, цитологических и иммунофлюоресцентных методов исследования убедительно показало клиническое и этиологическое единство этих заболеваний.

Полученные данные позволили рекомендовать единый термин и называть заболевание «острый герпетический стоматит», положив в основу вирусную этиологию заболевания. Этот стоматит занимает одно из ведущих мест в детской инфекционной патологии, встречаясь чаще скарлатины, кори, эпидемического паротита и лишь немного уступая ветряной оспе.

Острый герпетический стоматит среди неиммунных лиц имеет сравнительно высокую контагиозность. Так, в детских дошкольных учреждениях и в больничных палатах при эпидемической вспышке может заболеть до $\frac{3}{4}$ детей.

Передача инфекции происходит, очевидно, контактным и воздушно-капельным путем.

Для развития заболевания имеет значение нарушение целостности слизистых оболочек и кожных покровов. Четкой сезонности возникновения заболевания выявить не удастся. Наибольшая распространенность заболевания среди детей в возрасте от 6 мес до 3 лет объясняется тем, что у них исчезают антитела, полученные от матери интерплацентарно, а также недостаточной зрелостью системы специфического иммунитета.

Острый герпетический стоматит, как и другие инфекционные заболевания, имеет пять периодов развития: инкубационный, продромальный (катаральный), периоды развития болезни (высыпаний), угасания и клинического выздоровления (реконвалесценции). В зависимости от степени выраженности общего токсикоза и местных проявлений в полости рта заболевание может протекать в легкой, средней и тяжелой форме.

Из общих симптомов характерны гиперергическая реакция с подъемом температуры тела до 4 ГС и выше при тяжелой форме заболевания, недомогание, слабость, головная боль, кожная и мышечная гиперестезия, отсутствие аппетита, бледность кожных покровов, тошнота и рвота центрального происхождения, так как вирус обычного герпеса является энцефалотропным. Уже в инкубационном и особенно в продромальном периоде отчетливо выявляется увеличение подчелюстных, а в тяжелых случаях и шейных лимфатических узлов.

На пике подъема температуры возникает гиперемия и отечность слизистой оболочки полости рта; на воспаленной слизистой оболочке губ, щек, языка возникают от 2—3 до нескольких десятков близко расположенных друг к другу групп пузырьков, которые быстро вскрываются. На их месте возникают эрозии с некрозом в центре размером 0,5—1 см, весьма напоминающие афтозные элементы. На губах высыпания быстро покрываются корками. При этом поражение может локализоваться не только в полости рта, но и на коже лица, особенно часто это наблюдается при тяжелой форме заболевания. В связи с тем, что высыпания продолжают возникать в течение нескольких дней, при осмотрах можно видеть элементы

поражения, находящиеся на разных стадиях развития. Очередное появление высыпаний сопровождается ухудшением общего состояния ребенка, беспокойством или адинамией и подъемом температуры тела на 1—2°C по сравнению с предыдущими сутками. Обязательным симптомом острого герпетического стоматита является гиперсаливация, слюна становится вязкой и тягучей, отмечается запах изо рта.

Уже в катаральном периоде заболевания часто возникает выраженный гингивит, который в дальнейшем, особенно при тяжелой форме, приобретает эрозивно-язвенный характер. Отмечается выраженная кровоточивость десен и слизистой оболочки полости рта. В крови детей с тяжелой формой заболевания обнаруживают лейкопению, палочкоядерный сдвиг влево, эозинофилию, единичные плазматические клетки, юные формы нейтрофилов. Иногда в моче появляется белок. В слюне сначала определяется сдвиг pH в кислую сторону, затем — в щелочную, при этом в слюне обычно отсутствует интерферон, а содержание лизоцима заметно снижено. Гуморальные факторы естественной защиты организма, в том числе фагоцитоз, в период разгара заболевания также резко снижены.

Диагноз острого герпетического стоматита устанавливают на основании клинической картины и эпидемиологии заболевания. Для уточнения диагноза рекомендуется производить цитологическое исследование материала с герпетических эрозий, который окрашивают по Романовскому—Гимзе, чтобы обнаружить так называемые гигантские многоядерные клетки, которые характерны для герпеса.

Весьма перспективным для этиологической диагностики заболевания является метод иммунофлюоресценции, который позволяет получить результат в течение 2,5—3 ч с момента забора материала.

Лечение простого пузырькового лишая у взрослых заключается в смазывании очага поражения 2—3 раза в день спиртовыми растворами анилиновых красителей или мазями, содержащими противовирусные вещества (1—3% оксолиновая, 3% октатионовая, 2—5% теброфеновая и др.). Хороший эффект дает лейкоцитарный интерферон, раствор которого наносят на область поражения 6—7 раз в день. При лечении рецидивирующего герпеса необходимо применять средства, повышающие защитные силы организма (гамма-глобулин, пирогенал и др.). Положительное действие оказывает герпетическая поливакцина, которую вводят внутримышечно по 0,1—0,2 мл с интервалом в 2—3 дня, на курс 10 инъекций. Неплохой эффект дает дезоксирибонуклеаза, которую вводят парентерально по 10—50 мг 2 раза в неделю, на курс 6—10 инъекций.

Тактика врача при лечении детей, больных острым герпетическим стоматитом, должна определяться степенью тяжести заболевания и периодом ее развития. При средней тяжести и тяжелом течении болезни общее лечение желательно проводить вместе с педиатром. Учитывая, что эти формы заболевания развиваются на фоне существенного снижения защитных сил организма, целесообразно применять средства, стимулирующие иммунитет (ли-зоцим, продигиозан, гамма-глобулин парентерально; метилурацил, пентоксил, нуклеинат натрия), одновременно следует проводить десенсибилизирующую терапию (димедрол, супрастин, пипольфен, глюконат кальция и др.). Местное лечение при остром герпетическом стоматите заключается в проведении противовирусной терапии. Назначают 0,25—1% оксолиновую, 1—2% флореналевую, 1—2% теброфеновую, 4% гелиомициновую мазь, 1% раствор дезоксирибонуклеазы, линимент хелепина, смесь интерферона с продигиозаном и другими интерферонгенами. Эти препараты применяют 3—4 раза в день. Противовирусные средства необходимо наносить на всю слизистую оболочку, а не только на пораженные участки, так как они дают как лечебный, так и профилактический эффект. Раз в день полость рта рекомендуется обработать 0,1—0,5% раствором протеолитических ферментов (трипсин, хемотрипсин, панкреатин и др.), которые способствуют растворению некротизированных тканей.

В период угасания болезни основное значение придается применению слабых антисептиков и кератопластических средств. Хорошие результаты дают аппликации масляных растворов витамина А, масла шиповника, каротолина, мазь и желе

солкосерил, мази с метилурацилом, ливиан, левовинилол. В качестве противомикробных средств можно применять растворы фурацилина, этикридина лактата, этакридина, этония и т.д. Больной должен принимать жидкую или полужидкую пищу, не раздражающую воспаленную слизистую оболочку, получать достаточное количество жидкости. Перед приемом пищи необходимо обезболить слизистую оболочку рта 5% анестезиновой эмульсией.

В заключение следует отметить, что острый герпетический стоматит, протекающий в любой форме, является контагиозным заболеванием, во всех случаях требуется внимание со стороны педиатра и стоматолога для того чтобы обеспечить комплексное лечение, исключить контакт больного со здоровыми и провести профилактические мероприятия в детских коллективах. В детских учреждениях, особенно в ясельных группах, не следует допускать к работе с детьми сотрудников в период проявления герпеса, независимо от его локализации. При выявлении в детском учреждении ребенка, больного острым герпетическим стоматитом, ему не разрешают посещать детское дошкольное учреждение, даже если заболевание протекает в очень легкой форме.

Опоясывающий лишай. Это заболевание, вызываемое вирусом, идентичным по своим антигенным свойствам вирусу ветряной оспы. Этот вирус отличается нейродермотропностью с преобладающим действием на центральную и периферическую нервную систему. Заболевание часто развивается на фоне резкого ослабления защитных свойств организма, нередко как осложнение пневмонии, болезней крови и других истощающих заболеваний.

Болезнь начинается с болей по ходу пораженных периферических нервов всегда с одной стороны. На лице и слизистой оболочке рта появляются парестезия и боли по ходу одной или двух ветвей тройничного или лицевого нерва. Затем появляется эритема в виде пятен, иногда сливающихся в полосы, где образуются группы мелких пузырьков, наполненных серозным или геморрагическим содержимым. Высыпания, резко ограниченные, односторонние, выявляются по ходу пораженных нервов. На слизистой оболочке полости рта эти пузырьки быстро вскрываются, образуя эрозии с фестончатыми очертаниями.

Вся толща щеки в зоне поражения может быть отечна и инфильтрирована, подчелюстные лимфатические узлы увеличены, болезненны. При поражении двигательных и чувствительных волокон лицевого нерва иногда развивается синдром Рамзая Хунта, включающий опоясывающий лишай, паралич лицевого нерва и боли в ухе. Заболевание длится 3—6 нед. и спонтанно разрешается. Болезнь сопровождается болями невралгического характера, которые могут сохраняться и после ликвидации высыпаний.

В диагностическом отношении важное значение имеет односторонность поражения, болевой синдром, локализация высыпаний строго в зоне иннервации пораженного нерва, отсутствие рецидивов. Последнее отличает опоясывающий лишай от *Herpes simplex recidivans*.

Лечение заключается в назначении антибиотиков широкого спектра действия, салицилатов, витаминов В и В₁₂, дезоксирибонуклеазы, интерферона, анальгетиков и др. Слизистую оболочку рта обрабатывают противовирусными мазями (0,25—0,5% оксолиновая, 0,5—2% теброфеновая, 1—2% флореналева) или раствором интерферона (32 ЕД в 1 мл). В период разрешения высыпаний показаны кератопластические средства: масло шиповника, облепихи, каротолин, мази, содержащие витамин А.

Герпетическая ангина. Заболевание вызывается энтеровирусом Коксаки группы А, начинается остро: с подъема температуры тела, миалгических болей, общего недомогания. В заднем отделе рта: на мягком небе, передних дужках, миндалинах и задней стенке глотки — появляются болезненные сгруппированные и

одиночные везикулы, заполненные серозным или геморрагическим содержимым. В последующем часть везикул исчезает, другие вскрываются, образуя эрозии. Слияние мелких эрозий приводит к образованию эрозированных участков разной величины с фестончатыми очертаниями. Некоторые из эрозий могут напоминать афты. Эрозии малоболезненны, эпителизируются медленно, иногда в течение 2—3 нед. Описаны случаи заболевания членов одной семьи и даже эпидемические вспышки.

Лечение состоит в симптоматической общей терапии и местном применении в первые 2—3 дня противовирусных, а в дальнейшем кератопластических средств. Частые полоскания и смазывания замедляют процесс эпителизации эрозий.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ:

1. Практическое применение РСК:
 - а. серодиагностика сифилиса - реакция Вассермана,
 - б. серодиагностика туберкулёза
 - в. сероидентификация чистых культур бактерий на стекле,
 - г. сероидентификация антигенов бактерий
2. К трепонемальным тестам относят:
 - а) реакция иммунофлюоресценции
 - б) реакция иммобилизации трепонем
 - в) реакция Вассермана
 - г) осадочные реакции
3. Для системного лечения кандидоза применяют:
 - а – ламизил (тербинафин)
 - б – итраконазол (орунгал)
 - в – флюконазол (дифлюкан)
 - г – кетоконазол (низорал)
4. Группа бактерий, с активизацией которых связывают развитие пародонтита относится к родам:
 - а – лактобактерий
 - б – превотелл
 - в – стафилококков
 - г – актиномицетов
5. Возбудителями ювенильного пародонтита являются:
 - а – лептотрихии
 - б – стрептококки
 - в – актинобациллы
 - г – бифидобактерии

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 11.

Тема: Микрофлора при протезировании и имплантации зубов. Изучение адгезии и колонизации бактерий полости рта на стоматологические материалы. Диагностика перимплантитов и их профилактика.

Учебная цель:

изучить значение резидентной микрофлоры полости рта в развитии осложнений дентальной имплантации и принципы профилактики постимплантационных осложнений воспалительного характера.

Студент должен знать:

1. Провести забор материала для микробиологического исследования при остеомиелитах.
2. Характеристику микроорганизмов, являющихся наиболее частыми возбудителями постимплантационных осложнений.
3. Чувствительность к антибиотикам.

Студент должен уметь:

1. Провести забор материала на антибиотикочувствительность.
2. Проведение бактериологического метода исследования (по схеме).
3. Провести учет результатов.

План занятия:

1. Представителей каких биотопов полости рта являются наиболее частыми возбудителями постимплантационных осложнений?
2. Пути инфицирования зоны имплантации, связанные с контаминацией костного ложа имплантата и линий шва.
3. Патогенез и клинические формы постимплантационных осложнений воспалительного характера.
4. Забор материала для исследования при периимплантитах и остеомиелитах.
5. Профилактика постимплантационных осложнений воспалительного характера.

Самостоятельная работа студентов:

1. Учесть результаты посевов микрофлоры слизистой оболочки полости рта до и после использования самоклеящихся плёнок ДИПЛЕН-ДЕНТА и занести в протокол.
2. Микроскопия мазков из чистых культур анаэробных бактерий, выделенных при периимплантантах:
 - а) превотеллы
 - б) пептострептококки
 - в) фузобактерии
3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала из протезного ложа.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12.

ТЕСТОВЫЙ КОНТРОЛЬ.

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

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

**СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК
ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ -
МИКРОБИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА
ДЛЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ**

Осенний семестр

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь преподавателям к каждому практическому занятию в IV 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 гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

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

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1.

Тема: Микробиологическая диагностика вирусных болезней. Индикация и идентификация вирусов в исследуемом материале. Серологический метод диагностики вирусных болезней: реакции нейтрализации, пассивной гемагглютинации, ИФА. Отработка методов диагностики на примере вирусных болезней:

**-культивирование в курином эмбрионе, цветная проба, гемагглютинация и торможение гемагглютинации при идентификации вирусов гриппа и ОРВИ;
-серологические реакции и полимеразо-цепная реакция при диагностике вирусных гепатитов В, С, герпеса, ВИЧ.**

Учебная цель:

4. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
5. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.
6. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С, герпеса, ВИЧ- инфекции.

План занятия:

12. Особенности биологии вирусов.
13. Принципы классификации вирусов.
14. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.
15. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гриппа, ОРВИ.
16. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний
17. Принципы микробиологической диагностики гриппа, ОРВИ.
18. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.
19. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В, С, ВИЧ-инфекции, герпеса
20. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
21. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В, С, ВИЧ- инфекции, герпеса.
22. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С, ВИЧ- инфекции, герпеса.

Самостоятельная работа студентов:

7. Разбор поставки и учет результатов РИФ при ОРВИ (демонстрация).
8. Разбор поставки и учет результатов РТГА для сероидентификации при гриппе (демонстрация).
9. Разбор поставки и учет результатов ИФА для серодиагностики при ОРВИ (демонстрация).
10. Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
11. Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
12. Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики

(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).
4. Учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
5. Учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
6. Учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики (демонстрация).

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ 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 м до 300-400 м.
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:

11. Палочковидная
12. Сферическая (шаровидная)
13. Кубоидальная
14. Головчатая (сперматозоидообразная)
15. 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:

7. **Вирусологическая диагностика** - основана на выделении из исследуемого материала вируса и его последующей идентификации.
8. **Серологическая диагностика** - определение специфических иммунологических изменений в организме под действием вирусов (чаще всего с помощью диагностикумов выявляют в сыворотке крови противовирусные антитела).
9. **Молекулярно-биологическая диагностика** - обнаружение в клиническом материале фрагментов нуклеиновых кислот вирусов-возбудителей с помощью зондов (гибридизация НК) или ПЦР.

Отдельные вирусы, размером более 200 м, могут быть окрашены по Романовскому - Гимзе; вирусы меньших размеров (вирусы оспы) удастся 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, лимонovidные 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.

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 вирусосодержащего 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:

- 5 .По типу гроздьобразования (аденовирусы);
- 6 .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 гемагглютинины - РГА+(зонтик), если нет - РГА - (пуговка).

Реакция гемадсорбции. Механизм сходен с РГА.

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 *Orthomyxoviridae*, 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 НА (Н1,Н2,Н3) и два подтипа NA (N1, N2). Вирусы гриппа А и В содержат NA и НА в качестве основных структурных и антигенных компонентов вирусной частицы, обладающих гемагглютинирующей и нейраминидазной активностями. У вируса гриппа С 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 (Н) и из нейраминидазы (N). Антитела, вырабатываемые в ответ на гемагглютинин (Н), 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 А, возникают примерно каждые 2—3 года, а вызванные серотипом В — каждые 4—6 лет. Серотип С 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 пребывании 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 вирусемию, 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.

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°C инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°C около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°C в течение 60 минут, прогревании при 60°C 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 неременным 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 (HDV) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. HDV представляет собой сферическую частицу, в центре которой находится сферический антиген (HD-Ag), содержащий РНК. Наружная оболочка частицы образована поверхностным антигеном вируса гепатита В - HBs антигеном (HBsAg). HDV 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 HDV. Поэтому HDV - инфекция протекает всегда вместе с HBV-инфекцией. HDV располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. HDV-инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции HDV в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к HDV 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 HDV выявлена в Молдове, Казахстане, Средней Азии, Туве, то есть в районах, гиперэндемичных по ВГВ. В европейской части России частота выявления антител к HDV составляет 1,2-5,5 %.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим ВГД, вирусоносители, а также носители антиHDV, так как известно, что у лиц с антиHDV одновременно можно обнаружить РНК- HDV. Передача HDV происходит так же, как и при ВГВ (парентеральным, половым путем, от матери плоду). К дельта -инфекции восприимчивы лица, не болевшие ВГВ (то есть 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 HDV, проявляется прежде всего появлением HD-Ag в крови. Дельта -антигемия может быть

кратковременной или продолжительной в зависимости от того, как происходило инфицирование и имеется ли интегрирование HBV-вируса в геном гепатоцита. Различают острое, затяжное и хроническое течение дельта-инфекции. Характер ее течения лимитируется продолжительностью HBs-антигемии: по мере ее истощения прекращается и синтез HDV, и завершается дельта-зависимый патологический процесс.

Дельта-инфекция развивается в виде коинфекции или суперинфекции. При коинфекции происходит одновременное заражение HBV + HDV 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 коинфекции репликация HBV чаще всего ВГВ+ВГД-гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции HDV-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 помочь 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 технологии 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 маркеров 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 иммуноблоттинг, 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 ней.

Герпес (греч. ἑρπης — 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°C , тогда как при температуре -20°C он быстро инактивируется. Вирусосодержащие ткани могут быть сохранены более 6 месяцев при 4°C , 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 меченого 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 гемагглютинации 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	-----	70 мин.
3. Проверка протоколов	-----	10 мин.
4. Уборка рабочего места	-----	10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	-----	15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2.

Тема: Инфекционный контроль в стоматологии. Дезинфекция, предстерилизационная обработка и стерилизация инструментов, материалов, оборудования. Антисептики и дезинфектанты. Способы забора материала для исследования из полости рта (для микробиологических исследований). Современные методы клинической иммунологии и молекулярной генетики.

Учебная цель:

1. Изучить особенности забора исследуемого материала из полости рта для проведения различных методов микробиологического диагноза.
2. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.

План занятия:

2. Особенности забора исследуемого материала из полости рта (ротовая жидкость, зубная бляшка, содержимое десневого желобка, пародонтального кармана, кариозной полости, корневых каналов и др.).

Самостоятельная работа студентов:

3. Изучить особенности забора исследуемого материала из полости рта.
4. Оформить протоколы исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Препараты для асептики и антисептики.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

4. Зарисовать в протокол схему забора исследуемого материала при осложнениях кариеса зубов и пародонтита.
5. Используя справочную литературу и рисунок "Микробиоценоз полости рта", зарисовать представителей резидентной микрофлоры полости рта при окраске по Граму.
6. Результаты внести в протокол.

Таблица. Забор исследуемого материала из содержимого пародонтального кармана

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА

коринебактерии

лактобактерии

Актиномицеты

спирохеты

Strept.mutans

лактобактерии

пептострептококки

анаэровибрио

анаэробоспириллы

нейсерии

лептотрихии

грибы кандиды

трихомонады

фузобактерии

амёбы

бактероиды

бактероиды

фузобактерии

вейлонеллы

анаэробовибрио

анаэробоспириллы

спирохеты

Обозначения:

5- зубной налёт

6- иккотрешины и каналцы эмали зуба

7- десневой желобок

8- лакуны слизистой оболочки полости рта

1-2. Мазок из зубного налёта или соскоб со слизистой готовят на предметном стекле. Забор материала можно производить стерильным шпателем, гладилкой, спичкой. Взятый материал из межзубных промежутков или у шейки зуба наносят на предметное стекло рядом с каплей воды и растирают посуху, а затем вносят петлёй воду, постепенно готовя однородную взвесь и равномерно распределяя её по поверхности стекла. Мазок высушивают на воздухе, фиксируют в пламени горелки и окрашивают по Граму. При микроскопии под иммерсией изучают морфологические особенности и отношение к окраске по Граму представителей нормальной микрофлоры биотопов зубного налета и слизистой языка.

3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала зубной бляшки

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

СХЕМА ФОРМИРОВАНИЯ ЗУБНОГО НАЛЕТА (БЛЯШКИ).



2. Микроскопическое исследование демонстрационных мазков чистых культур бактерий, выделенных из полости рта (лактобактерий, пептококков, бактероидов).
3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала из коневых каналов.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3.

Тема: Стерилизация и дезинфекция. Способы стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды и лечебного инструментария. Особенности стерилизации и предстерилизационной обработки стоматологических инструментов, боров, наконечников турбин и т.п.

Учебная цель:

1. Ознакомиться с современными методами стерилизации и дезинфекции в стоматологии.
2. Ознакомиться с перечнем современных дезинфицирующих и антисептических препаратов.
3. Изучить правила предосторожности от заражения инфекционными заболеваниями на приёме у стоматолога.

План занятия:

1. Особенности микроскопического, бактериологического и серологического методов исследования при диагностике стоматологических заболеваний.
5. Современные методы стерилизации и дезинфекции в стоматологии (ультразвук, УФ-гамма-лучи, лазер)
6. Правила предосторожности от заражения инфекционными заболеваниями на приеме у стоматолога.
7. Инструкции и нормативные документы по дезинфекции и стерилизации в стоматологии.

Самостоятельная работа студентов:

6. Изучить инструкции и нормативные документы по дезинфекции и стерилизации в стоматологии.
7. Проработать методические рекомендации к занятию и заполнить таблицу.

8. Таблица

9. Характеристика методов стерилизации в стоматологии

10.

	Метод	Аппарат	Режим	Надёжность и показания	Объекты стерилизации
1.	Паром под давлением				
2.	Сухим жаром				

3.	Газовая стерилизация.				
4.	Химическая стерилизация.				
5.	Ультразвуком.				
6.	Уф и гамма-лучами				
7.	Лазером				

ОСНАЩЕНИЕ

1. Препараты для асептики и антисептики.
2. Оборудование для дезинфекции и стерилизации материалов (демонстрация).

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

В стоматологии больше, чем в других областях медицины, необходимо строгое соблюдение правил асептики и антисептики, так как любое стоматологическое вмешательство производится на инфицированных тканях. Не только удаление кариозного зуба или обработка корневого канала, но и простой осмотр полости рта больного связаны с инфицированием используемых для этих целей инструментов, чтобы исключить перенос микробов от одного больного в полость рта другого, а также предотвратить инфицирование здоровых тканей, допустима работа только стерильным инструментом. Обеспечение стерильным перевязочным материалом и инструментом - задача сестры, которую должен контролировать врач.

I. ОБРАБОТКА ПОМЕЩЕНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО КАБИНЕТА

1. Следить в кабинете за температурой и влажностью, использовать воздушные фильтры.

2. Перед приемом больных необходимо провести влажную уборку с использованием различных дезинфицирующих средств. Протирать 2-р. салфеткой с интервалом в 15 минут дезинфицирующими растворами (3 % хлорамина, 6 % перекиси водорода, 70 град. спиртом и др.) поверхности всех предметов с целью уничтожения вегетативных форм бактерий.

3. Затем необходимо включить ультрафиолетовую установку для уничтожения находящихся в воздухе и на поверхности бактерий. (Расчет бактерицидной лампы в 2.5 вт на 1 куб.м в течение 1 часа)

II. ДЕЗИНФЕКЦИЯ, СТЕРИЛИЗАЦИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ КАБИНЕТЕ

5. Дезинфекции должны подвергаться все изделия, не имеющие контакта с раневой поверхностью, кровью или инъекционными препаратами (используются растворы 6 % перекиси водорода, 3 % хлорамина, 70⁰ спирта и др.)

6. Стерилизация - это полное обеспложивание материала. Стерилизации должны подвергаться все предметы, соприкасающиеся с раневой поверхностью, кон активирующие с кровью, и отдельные виды медицинских инструментов, которые в процессе работы соприкасаются со слизистой оболочкой и могут вызвать ее повреждение.

7. Перед стерилизацией необходимо замочить в моющем растворе на 40-50 минут весь инструмент, боры, а затем очистить их от белковых, жировых, механических загрязнений и лекарственных препаратов. Очистка должна производиться струйным, ротационным методами, ершеванием или с применением ультразвуковых ванночек, в которые помещают 6 % раствор перекиси водорода и моющее вещество (порошок "Лотос", "Прогресс" и др.).

8. В зависимости от стерилизуемого материала можно использовать термические, химические и газовые методы стерилизации. Предпочтение следует отдавать термическим методам, как более надежным.

Однако изделия из резины, полимеров, оптическая техника, некоторый инструмент, аппараты сердце-легкие, искусственная почка не выдерживают термической обработки.

9. Стерилизация паром под давлением осуществляется в автоклавах. Режим стерилизации позволяет уничтожить не только бактерии, споры, но и такие вирусы, как вирус гепатита Б (сывороточный гепатит) и ВИЧ. Давление 2 атм. (температура 132 град.) в течение 1 часа. Стерилизацию проводят в стерилизационных коробках, биксах, мешках из влагопрочной бумаги с маркировкой. Этот метод рекомендуется для изделий из коррозиестойкого металла, стеклянных шприцев, резины, текстильных материалов, некоторых полимеров.

10. Некоторый инструмент (особенно режущий) рекомендуется стерилизовать в гласс-перленовом стерилизаторе при температуре 240 град. в течение 5-10 секунд.

11. Стерилизация сухим жаром в сухожаровых печах проводится при температуре 180 град. в течение 150 минут (2.5 часа). Длительность воздействия также позволяет уничтожить вирусы гепатит Е и ВИЧ. Стерилизации подвергают сухие изделия в упаковке из бумаги (срок хранения 20 дней). Стерилизовать можно и без упаковки, но тогда изделия должны быть использованы непосредственно после стерилизации.

12. Химический метод стерилизации заключается в том, что изделия погружаются в раствор 6 % перекиси водорода на 6 часов или

в камеру с парами 40 % формальдегида в этиловом спирте на несколько часов, что зависит от стерилизуемого материала.

9. В последнее время, в связи с появлением новой аппаратуры, стал более широко применяться газовый метод стерилизации. Он осуществляется в специальных камерах или настольных газовых стерилизаторах, где находится окись этилена или смесь этилена с бромистым метилом, Стерилизация идет при температуре от 35 град. до 42 град, в течение нескольких часов или дней в специальных пакетах с маркировкой:

а) если контакт с кровью, тканями был меньше 30 мин., то металлические изделия стерилизуют в течение 4-х часов, изделия из резины, пластмасс - 24 часа.

б) если контакт с кровью, тканями был больше 30 мин., то металлические изделия стерилизуют в течение 24 часов, изделия из резины, пластмасс - одну неделю, аппарат легкие-сердце-почка в течение 2-х недель.

Такая длительная стерилизация связана с профилактикой ВИЧ и гепатита Б.

10. С целью профилактики сывороточного гепатита Б и ВИЧ рекомендуется использовать предметы одноразового пользования (шприцы, инъекционные иглы,

системы для переливания крови и др.)

Инструкция по технике безопасности при работе с биоматериалом, потенциально инфицированным ВИЧ

I. Общие положения.

СПИД - заболевание со смертельным исходом, развивающееся в результате нарушения функций иммунной системы. Инкубационный период заболевания - 5-10 лет. Случаев спонтанного выздоровления или излечения от СПИД не отмечено. Возбудители - Т-лимфотропные ретровирусы HTLV-3 (HIV-1) и HTLV-4 (HIV-2). Пути передачи - с кровью (клетки, сыворотка), половой, от матери к детям с грудным молоком. Вирусы нестойки - погибают после 30-минутной экспозиции в 20% растворе этилового спирта. Поэтому все меры, предусмотренные для предотвращения заражения вирусами гепатита, достаточны и для защиты от инфекции вирусами СПИД. При работе с инфекционным материалом необходимо соблюдать три основных правила: менять халат, работать в одноразовых перчатках и чаще мыть руки.

II. Правила работы.

1. Работать в отделении следует в специально предназначенных для этого халатах. Хранить их необходимо в шкафу при входе в отделение, надевать перед работой, снимать при выходе из отделения.

2. Вся мебель и оборудование в отделении должны иметь пластиковое или металлическое покрытие, легко поддающиеся дезинфекции. На столах должны стоять емкости с дезинфицирующим раствором (70% раствор этилового спирта).

3. Пробирки с биоматериалом должны быть промаркированы тщательно закрыты (пробки, парафильм, пластырь) и доставляться в небьющихся контейнерах, легко поддающихся дезинфекции.

4. Все работы, связанные с приемкой биоматериала и постановкой метода, необходимо делать в одноразовых перчатках. Во время работы все повреждения на руках должны быть закрыты (лейкопластырь, напальчник).

5. Центрифугирование пробирок с биообразцами необходимо проводить в центрифуге, имеющей отдельные крышки на каждом стакане.

6. При работе с биоматериалом следует пользоваться средствами, предохраняющими глаза от попадания капель жидкости (защитное стекло, щиток, очки).

7. Все одноразовые материалы, контактирование с исследуемым биоматериалом (пробки, наконечники, клеящая бумага, перчатки) необходимо сразу же после использования сбрасывать в специальную емкость с дез. раствором (70% этиловый спирт).

8. По окончании работы все рабочие поверхности (столы, оборудование) протереть тампоном, смоченным дез. раствором. Все использованные при постановке одноразовые материалы тестовые пробирка, перчатки, пробки, плато и пр.) замочить.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4.

Тема: Микробиоценоз полости рта. Резидентная микрофлора различных биотопов ротовой полости. Зубной налёт и его изучение при оценке гигиенического состояния ротовой полости.

Учебная цель:

3. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.
4. Изучить микрофлору зубного налета.

План занятия:

5. Симбиоз, этапы симбиоза.
6. Полость рта как экологическая ниша организма.
7. Основные представители резидентной микрофлоры полости рта, их свойства.
8. Зубная бляшка. Механизм ее формирования. Локализация.

Самостоятельная работа студентов:

3. Зарисовать в виде схемы морфологию основных резидентов полости рта:
 - 1) анаэробных грам-положительных (пептострептококки, актиномицеты, пропиони- и зубактерии) и грам-отрицательных (вейлонеллы, бактероиды, фузобактерии, извитые формы);
 - 2) аэробных и факультативно-анаэробных грам-положительных (стрептококки, стафилококки, Корине- и лактобактерии) и грам-отрицательных (нейсерии, псевдомонас),
4. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Препараты для асептики и антисептики.
2. Оборудование для дезинфекции и стерилизации материалов (демонстрация).

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов в полости рта подвержено значительным колебаниям. В настоящее время описано несколько сотен видов микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. В ее состав входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие.

Количество микробной флоры зависит от гигиенического содержания полости рта, курение способствует размножению микроорганизмов, вызывает хроническое воспаление слизистой оболочки. Твердая пища больше влияет на уменьшение количества микробов, т.к. жевание способствует механической очистке ротовой полости от микроорганизмов. Расстройство слюноотделения, жевания и глотания всегда приводит к нарастанию количества микроорганизмов в ротовой полости.

Наличие кариозных полостей, десневых карманов, плохо припасованные зубные несъемные протезы и др. обуславливают довольно высокую частоту формирования очагов хронической инфекции с последующей аллергизацией организма и высокой степенью риска развития общих аутоиммунных заболеваний.

Микрофлора полости рта новорожденного представлена в основном молочно - кислыми палочками, негемолитическими стрептококками и непатогенными стафилококками. Ее довольно быстро (в течение недели) сменяют микроорганизмы, характерные для полости рта взрослого человека.

Главными обитателями полости рта взрослого человека являются бактерии, преимущественно (3/4 всех микробных видов) анаэробного типа дыхания. Среди них встречаются разнообразные кокки, палочки, извитые формы.

Несмотря на большое разнообразие микроорганизмов полости рта, количественно в ней преобладают микробы трех групп: около половины являются факультативно- и облигатно-анаэробные стрептококки, а другая половина состоит из вейлонелл (меньше 1/4) и дифтероидов (менее 1/4). Остальные многочисленные группы бактерий - стафилококки, лактобактерии, жгутиковые, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактероиды, нейссерии, гемофилы, микоплазмы, дрожжи, простейшие - представляют собой малые популяции по количеству, но равноправные группы по формированию ассоциации резидентов.

Таблица

Микрофлора полости рта в норме.

Микроорганизмы	В слюне		В зубно-десневых карманах (частота обнаружения в %)
	частота обнаружен. в %	количество в 1 мл	
Группа А. Резидентная флора 1. Аэробы и			
Streptococcus salvarius	100	10^7	100
Streptococcus mitis	100	10^6-10^8	100
Сапрофитные нейссерии	100	10^5-10^7	++
Лактобактерии	90	10^3-10^4	+
Стафилококки	80	10^3-10^4	-н-
Дифтероиды	80	Не опред.	+
Гемофилы	60	Не опред.	0
Пневмококки	60	Не опред.	Не определено
и др.	30	10^2-10^4	++
Сапрофитные	++	Не опред.	++
Тетракокки	++	Не опред.	++
Дрожжеподобные грибы	50	10^2-10^3	+
Микоплазмы	50	10^2-10^3	+
Простейшие:	0	0	45
Entamoeba gingivalis			
Trichomonas	0	0	25
II. Облигатные анаэробы	100	10^6-10^8	100
Анаэробные стрептококки			
(пептострептококки)	100	Не опред.	100
Бактероиды	100	Не опред.	100

Фузобактерии	75	10-104	100
Нитевидные бактерии	100	102-104	100
Актиномицеты и анаэробные дифтероиды	100	Не опред.	++
Спириллы и вибрионы	++	Не опред.	.1. ++
Спирохеты (сапрофиты)	±	Не опред.	100
Группа Б. Непостоянные	15	10-102	. 0
Klebsiella	2	10-102	+
Escherichia	3	10-102	0
Aerobacter	±	Не опред.	0
Pseudomonas	±	Не опред.	0
Proteus	±	Не опред.	0
Alcaligenes	±	Не опред.	0
Бациллы			
II. облигатные анаэробы			
Клостридии	+	Не опред.	0
Clostridium putrificum	±	Не опред.	0
Clostridium perfringens	+	Не опред.	0

Обозначение: ++ часто, + не очень часто, ± редко, 0 не обнаружены.

Количество микробов в полости рта неодинаково в разных его экологических нишах: слизистой оболочке, зоне десневого желобка, протоках слюнных желез, слюне и ротовой жидкости, зубной бляшке.

Так, например, содержание бактериальных клеток в слюне (ротовой жидкости) составляет от 50 млн. до 5 млрд., причем большинство бактерий попадает в слюну со спинки языка. В зубном налете (бляшке) микробов значительно больше: от 100 до 1000 млрд. в грамме материала. Самую большую группу среди встречающихся в полости рта бактерий составляют кокки. (Таблица 2).

Таблица.

Основные группы резидентной флоры полости рта по морфологии и типу дыхания.

Окраска по Граму	Морфология	Питание рода
1 ГРУППА: С анаэробным типом дыхания (облигатные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	VEILLONELLA
	палочки	BACTEROIDES PORPHYROMONAS PREVOTELLA FUSOBACTERIUM LEPTOTRICHIA
Грам-позитивные	кокки	PEPTOSTREPTOCOCCUS PEPTOCOCCUS
	палочки беспоровые	LACTOBACTERIUM BIFIDOBACTERIUM EUBACTERIUM PROPIONIBACTERIUM ACTINOMYCES
	палочки спорообразующие	CLOSTRIDIUM
2 ГРУППА: С аэробным и смешанным типом дыхания (аэробы и факультативные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	NELSSERIA
	палочки	PSEUDOMONAS BORDETELLA EIKENELLA
Грам-позитивные	кокки	STREPTOCOCCUS STAPHYLOCOCCUS
	палочки беспоровые	CORINEBACTERIUM NOCARDIA, ROTHIA
	палочки спорообразующие	BACILLUS

Стафилококки. Отдел Firmicutes, семейство Micrococcaceae, род Staphylococcus. В род Staphylococcus по классификации Байрд— Паркер входят 3 вида: S. aureus, S. epidermidis и S. saprophyticus. Предложенные недавно другие классификации включают большее количество видов стафилококков, но они используются пока только в научных исследованиях.

Все виды стафилококков представляют собой округлые клетки диаметром 0,5—1 мкм. В мазке располагаются обычно несимметричными гроздьями («гроздья винограда»), но встречаются одиночные клетки, пары клеток. Грамположительны. Спор не образуют, жгутиков не имеют. У некоторых штаммов можно обнаружить капсулу. Могут образовывать L-формы. Клеточная стенка содержит большое количество пептидогликана, связанных с ним тейхоевых кислот, протеин А.

Стафилококки хорошо растут на простых средах (рН 7,0—7,5); факультативные анаэробы. На плотных средах образуют гладкие круглые выпуклые колонии с различным пигментом. Пигмент не имеет таксономического значения. Могут расти на агаре с высоким содержанием (8—10 %) NaCl. Продуцируют сахаролитические и протеолитические ферменты. Стафилококки вырабатывают гемолизины, фибринолизин, фосфатазу, р-лактамазу, бактериоцинины, энтеротоксины, коагулазу, ДНК-азу, лейкоцидины, лецитовителлазу и др.

Стафилококки очень пластичны: быстро вырабатывают устойчивость к антибактериальным препаратам. Существенную роль в этом играют плазмиды, передающиеся с помощью трансдуцирующих фагов от одной клетки к другой. R-плазмиды детерминируют устойчивость к одному или нескольким антибиотикам, в том числе и за счет экстрацеллюлярной продукции р-лактамазы — фермента, разрушающего пенициллин, разрывающего его р-лактамное кольцо.

Возбудителем стафилококковых инфекций чаще бывает *S. aureus*, несколько реже — *S. epidermidis*, очень редко — *S. saprophyticus*. Стафилококки являются представителями нормальной микрофлоры человеческого тела, поэтому микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций не может ограничиться выделением и идентификацией возбудителей; необходимы количественные методы исследования, т. е. определение числа микроорганизмов в пробе.

Стафилококки в полости рта здорового человека встречаются в среднем в 30 % случаев. В зубном налете на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staph. epidermidis*. Значительно чаще патогенные стафилококки локализуются на слизистой глотки и носа, обуславливая так называемое "здоровое бактерионосительство". Обладая ферментативной активностью, стафилококки принимают участие в расщеплении остатков пищи в полости рта. Такие постоянные носители патогенного стафилококка являются источником воздушно-капельной инфекции. Патогенные стафилококки, встречающиеся на слизистой носоглотки и в полости рта являются частой причиной аутоинфекции, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта.

Лечение стафилококковых инфекций обычно проводят антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. В последние годы от больных часто выделяют стафилококки, резистентные к большинству химиотерапевтических препаратов. В таких случаях для лечения используют антитоксическую противостафилококковую плазму или иммуноглобулин, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. Для активной иммунизации (плановых хирургических больных, беременных женщин) может быть использован адсорбированный стафилококковый анатоксин.

Стрептококки. Отдел Firmicutes, семейство Streptococcaceae, род Streptococcus. В род Streptococcus входят более 20 видов, среди которых есть представители нормальной микрофлоры человеческого тела и полости рта, а также возбудители тяжелых инфекционных эпидемических заболеваний человека.

Стрептококки — мелкие (меньше 1 мкм) шаровидные клетки, располагающиеся цепочками или попарно, грамположительны, спор не образуют, неподвижны. Большинство штаммов стрептококков образуют капсулу, состоящую из гиалуроновой кислоты. Клеточная стенка содержит белки (M-, T- и R-антигены), углеводы (группоспецифические) и пептидогликаны. Легко переходят в L-формы.

Генетический обмен возможен за счет трансформации и трансдукции, но не конъюгации. Устойчивость к антибиотикам вырабатывается медленно.

Стрептококки группы А вырабатывают более 20 внеклеточных веществ, обладающих антигенной активностью. Наибольшее значение в патогенезе стрептококковых инфекций имеют:

- стрептокиназа (фибринолизин) — протеолитический фермент, расщепляющий фибрин и другие белки;
- ДНК-аза — фермент, деполимеризующий ДНК. Смесь ДНК-азы и фибринолизина способна разжижать экссудаты, лизировать венозные тромбы, поэтому может быть использована для удаления гноя и некротизированных тканей из раны;
- гиалуронидаза — фермент агрессии, разрушающий гиалуро-новую кислоту, входящую в состав соединительной ткани («фактор проницаемости»);
- эритрогенин — токсин, продуцируемый р-гемолитическими стрептококками группы А, способными вызывать скарлатину. Выделяется только

лизогенными культурами.

Стандартизованный разведенный эритрогенин используют при постановке внутрикожной пробы (проба Дика) для выявления чувствительности к этому токсину (восприимчивость к скарлатине).

Стрептококки являются основными обитателями полости рта. В 1 мл слюны содержится до 10^8 - 10^9 стрептококков. Тем не менее, в пробах слюны их примерно в 2 раза больше, чем в материале из бляшки или десневого желобка. Наиболее значительной группой стрептококков полости рта следует считать микроаэрофильные а-гемолитические ("зеленящие") стрептококки и j - негемолитические формы. Следует отметить, что от 40 - 90 % штаммов вида *milled* могут быть В-гемолитическими, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба и пародонта. В эту группу входят *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarium*. Они отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода.

Сдвиг pH в кислую сторону приводит к декальцинации зубной эмали. Особо следует подчеркнуть высокие способности микроаэрофильных стрептококков к агрегации с другими бактериями, которые показаны, в частности, в отношении актиномицетов, фузобактерий, лактобактерий. Все это способствует обнаружению данных видов в составе ассоциаций возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах в челюстно-лицевой области. Но особенно значительна их роль в развитии кариеса. Ведущее место в этом плане занимают два вида, активно продуцирующие из углеводов пищи молочную и другие кислоты на эмали - *S. mutans* и *S. sanguis*.

Все виды стрептококков плохо растут и погибают на простых питательных средах, т.к. в процессе роста и размножения стрептококки выделяют много перекиси водорода, которая действует на них губительно, т.к. они не продуцируют каталазу. Для создания оптимальных условий роста к питательной среде обычно добавляют кровь, в которой содержится каталаза, разрушающая перекись водорода. На кровяных средах стрептококки хорошо растут в аэробных условиях, при этом одни из них образуют на кровяном агаре колонии, окруженные зоной полного гемолиза (это гемолитические (В) стрептококки), другие окружены зоной зеленоватого цвета (зеленые стрептококки), у третьих (у) гемолиз отсутствует (негемолитические стрептококки).

Стрептококки выделяют экзотоксин и ферменты агрессии. Во внешней среде менее устойчивы, чем стафилококки. Большинство чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам. По антигенной структуре все стрептококки делят на 17 серологических групп (A, B, C, D, ... и до S), чаще других в полости рта обнаруживаются стрептококки групп A, C, D, F, G, H и O.

Пептострептококки - Гр + облигатно-анаэробные кокки, которые включают два рода - *Peptostreptococcus* и *Peptococcus*. Широко представлены во всех нишах полости рта. Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при кариесе, пульпите, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области.

Вейллонеллы - это облигатно-анаэробные, Гр -, мелкие кокко-бактерии, неподвижны, спор не образуют. Являются постоянными обитателями полости рта человека и животных. Изолированные колонии на лактат-агаре имеют 1-3 мм в диаметре, гладкие, выпуклые, чечевицеобразные, ромбовидной или сердечной формы, желто-белые, мягкие по консистенции. В полости рта встречаются представители двух видов вейллонелл (*V. parvula*, *V. alcalescens*), которые населяют слизистую оболочку полости рта, нёба, являются доминирующими в слюне и протоках слюнных желез. Хорошо ферментируют уксусную, пировиноградную и молочные кислоты, нейтрализуя кислые продукты метаболизма других бактерий, это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший фактор, резистентности к кариесу зубов. Патогенная роль вейллонелл не доказана.

Дифтероиды, или коринебактерии, представляют собой группу бактерий,

количественно сопоставимую с вейллонеллами.

Это полиморфные грам-позитивные палочки, располагающиеся упорядоченно («частоколом» или группами) в мазке из чистой культуры. Микробы некоторых видов способны формировать включения - зерна волютина.

Классификация дифтероидов полости рта до настоящего времени остается неразработанной. При исследовании материала дифтероидов зачастую трудно дифференцировать от актиномицетов и пропионибактерий. Факультативно-анаэробные виды дифтероидов составляют приблизительно 13% от числа резидентов, выделяемых со спинки языка, 15% - из десневого желобка и 24% - из зубной бляшки. Представители дифтероидов с облигатно-анаэробным типом дыхания составляют в этих материалах соответственно 8, 20 и 18%.

Дифтероиды играют важную роль в полости рта как стабилизирующий фактор орального микробиоценоза, так как синтезируют витамины, в частности, витамин К, являющийся стимулятором роста анаэробных бактерий. Редуцируя в процессе дыхания молекулярный кислород, они активно содействуют развитию облигатно-анаэробной флоры в аэробных условиях.

Показана мощная иммуномодулирующая активность антигенов дифтероидов (коринебактерии) на организм человека, что используется при лечении иммунодефицитов. Вместе с тем у коринебактерии обнаружены некоторые ферменты агрессии и токсические полимеры, они нередко обнаруживаются в ассоциациях с возбудителями гнойного воспаления.

Лактобактерии постоянно находятся в полости рта, неподвижны, спор и капсул не образуют, Гр + отличаются большим полиморфизмом. Растут на элективных питательных средах, содержат такие факторы роста, как витамины и некоторые аминокислоты. Растут в виде мелких, бесцветных, уплотненных колоний. Обладают довольно низкими адгезивными свойствами к эпителию слизистой и особенно к эмали зуба, однако представлены во всех нишах полости рта. Бурно размножаются при поступлении в полость рта углеводной пищи и обильно продуцируют молочную и другие кислоты, что позволяет их рассматривать, как кариесогенный фактор. Вместе с тем, лактобактерии играют важнейшую стимулирующую роль при формировании микробной ассоциации полости рта, так как синтезируют витамины групп В и К, необходимых для развития других бактерий и организма.

Ввиду образования большого количества молочной кислоты в процессе жизнедеятельности лактобактерий, они задерживают рост других микробов: стафилококков, кишечной палочки, брюшнотифозных и дизентерийных палочек. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий по отношению к ряду гнилостных микробов были замечены ещё И.И. Мечниковым, который предложил употреблять простоквашу, изготовленную из молока, заквашенного молочнокислыми палочками. До 90 % обитающих в полости рта лактобактерии относятся к видам *Lactobacterium casei*, *Lactobacterium fermenti*.

Актиномицеты - представлены мелкими Гр + палочками, имеющими тенденцию к образованию переплетающихся и ветвящихся нитей или более коротких цепочек. Актиномицеты находятся на слизистой оболочке рта, составляют строму зубного камня и входят в состав зубного налета. Наряду с этим они содержатся в кариозных полостях зубов, в патологических десневых карманах, в протоках слюнных желез.

Представители данного семейства могут принимать участие в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов, а также заболеваний парадонта. В полости рта имеются излюбленные места проникновения актиномицетов в глубину тканей - воспаленная десна около зуба мудрости или около разрушенных корней зубов, патологические десневые карманы при парадонтозе, корневые каналы зубов с омертвевшей пульпой, миндалина.

Для возникновения заболевания недостаточно только внесение актиномицета

вглубь ткани, определенную роль играет и состояние защитных сил, понижение сопротивляемости организма к инфекции.

Бактероиды - представляют группу коккоподобных, овоидных или полиморфных палочковидных Гр - бактерий. С 1990 года разделены на три рода: *Porphyromonas* (представитель - *P. Gingivalis* населяют десневой желобок, зубную бляшку), *Prevotella* (важнейший вид - *P. Melaninogenica* населяет карманы слизистой оболочки, фиссуры зуба, десневой желобок), *Bacteroides* (представитель - *B. Fragilis* встречается в складках слизистой у основания зубов, однако более типичен для кишечника. Для роста на питательных средах этим микроорганизмам необходим гемотин и витамин К. На кровяном агаре *B. melaninogenicus* формирует черные колонии. Наличие протеолитических ферментов у бактериоидов (коллагеназы, гиалуронидазы, гепариназы, Jg A -; Jg W-; Jg M – протеазы) имеет большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта.

Фузобактерии - удлиненные Гр - палочки, чаще с заостренными концами, нередко формирующие цепочки и нити. Населяют как слизистую рта, так и зубную бляшку.

Фузобактерии продуцируют мощные гистолитические ферменты - гиалуронидазу, лецитиназу, имеют эндотоксин. Наряду с бактериоидами и пептококками считаются основными возбудителями разнообразных гнойно - воспалительных процессов в полости рта, включая язвенно - некротические фасцииты.

Нейссерии - род *Neisseria* - Гр - диплококки, обнаруживаемые в различных нишах полости рта, особенно на поверхностях, которые постоянно соприкасаются с воздухом - спинка языка, мягкое нёбо, эмаль зубов. Патогенная роль их не доказана.

Дрожжеподобные грибы в полости рта здоровых людей встречаются в 40 - 50 % случаев. Кандида имеют вид овальной или удлиненной формы клеток размером 7 - 10 мкм, часто отпочковываются новой клеткой. Аэроб растут на среде Сабуро, содержащей дрожжевой экстракт и мальтозу, где вырастают выпуклые колонии матового цвета.

В полости рта чаще всего встречаются следующие виды: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida crusei*. Патогенные свойства наиболее выражены у *C. albicans*. Грибы вызывают общее заболевание организма - кандидомикоз или местное поражение полости рта - "молочницу".

Спирохеты - заселяют ротовую полость с момента прорезывания молочных зубов у ребенка и с того времени становятся постоянными обитателями полости рта. Гр -, подвижны, строгие анаэробы, растут на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость с добавлением свежих кусочков различных органов, на средах образуют помутнение в виде облачка. Высокая протеолитическая активность, разжижают желатин, яичный белок, свернутую сыворотку, образуют индол, сероводород, аммиак.

Легче всего их обнаружить в темном поле зрения при микроскопии нативного препарата.

Спирохеты вызывают патологические процессы в полости рта при значительном размножении все анаэробных микроорганизмов.

Простейшие полости рта - встречаются у 50 % здоровых людей, преимущественно в зубном налете, криптах миндалин (*Entamoeba gingivalis*). Размножаются при негигиеническом содержании полости рта. Их обнаруживают в гное из десневых карманов при тяжелой форме альвеолярной пиореи Д - 20 - 30 нм. Аэробы, подвижны, видны лучше в нативном неокрашенном препарате (раздавленная капля). Выращивают на кровяном или сывороточном агаре, залитым слоем жидкости Рингера и с добавлением раствора триптофана (1 : 10000).

Значительно чаще, чем амёбы, в полости рта здоровых людей встречаются трихомонады. Слабо подвижны, хорошо видны в нативном препарате, в живом состоянии. При окрашивании по Романовскому - Гимзе ядро блефаропласта и жгутики окрашиваются

в красный цвет, протоплазма - в голубой. Усиленное размножение трихомонад происходит так же, как и амёб, при негигиеническом содержании полости рта. В очень большом количестве они обнаруживаются при пародонтитах, при гингивитах.

Вирусы полости рта. Почти у всех здоровых людей в полости рта постоянно находится вирус герпеса (*Herpes vilgaris*). Заражение этим вирусом происходит еще в детстве воздушно-капельным путем от взрослых вирусоносителей. *Herpes vilgaris* относится к группе ДНК-содержащих герпесвирусов, размер 150 Нм. Выращивается на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона.

При ослаблении защитных сил макроорганизма в результате простуды, переутомлений и т.п. возможен рецидив болезни.

Клостридии. Род *Clostridium* - грам-положительные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны благодаря наличию жгутиков. Биохимически они активны. В норме входят в состав микробиоценоза кишечника. В полости рта определяются некоторые виды непостоянно.

Выделяются у больных с гнойными ранами челюстно-лицевой области, редко - при одонтогенных воспалительных процессах. При загрязнении раневой поверхности и обширной травматизации тканей возможно развитие экзогенной клостридиальной анаэробной инфекции, клинические проявления которой соответствуют классической картине газовой гангрены. Основные виды: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. clostridiiforme*, *C. bifermentans* (последний встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

Прочие резиденты. Среди бактерий с аэробным типом дыхания в полости рта встречаются также представители актиномицетной линии - нокардии и ротии (*Rothia dentocariosae*), которые, обладая высокими адгезивными и коагрегационными свойствами, способствуют формированию зубной бляшки. Последний вид нередко определяется в кариозных полостях и свищах при актиномикозе, а также при неспецифических остеомиелитах челюстно-лицевой области.

Неферментирующие грам-негативные бактерии полости рта представлены родами *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Eikenella* (*E. corrodens*) и некоторыми другими. Среди них наиболее известны бактерии *Pseudomonas (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, которые бурно развиваются у некоторых молодых людей, вызывая прогрессирующий гнойный юношеский пародонтит. Их роль в развитии пародонтита взрослых в настоящее время изучается.

Зубная бляшка. Ее значение в развитии кариеса зубов.

С помощью сканирующей электронной и иммунолюминесцентной микроскопии показано, что зубная бляшка состоит в основном из микробов с незначительным включением бесструктурного вещества органической природы.

В формировании зубной бляшки можно выделить несколько основных механизмов.

1. Адгезия к эмали эпителиальных клеток, инвазированных бактериями, с последующим ростом микроколоний,
2. Преципитация внеклеточных гликанов, продуцируемых *S. mutans* и *S. sanguis*.

5. Осаждение гликопротеинов слюны, формирующих пелликулу с последующей специфической адгезией к ней бактерий.

6. Агглютинация бактерий антителами с последующей фиксацией на поверхности эмали.

С помощью иммунолюминесцентной микроскопии показано, что бактерии в зубной бляшке покрыты иммуноглобулинами классов А и G.

Зубная бляшка начинает образовываться уже в первые минуты после чистки

зубов, причем в динамике ее формирования происходят значительные изменения характера микробиоценоза. Общей тенденцией является изменение состава флоры от доминирования аэробных и факультативно-анаэробных форм, преимущественно грам-положительных кокков, к облигатно-анаэробным грам-отрицательным палочкам и извитым формам.

3 фаза формирования зубной бляшки - первые 1-4 часа после тщательной чистки зубов (или обработки ультразвуком на аппарате "Пьезон-мастер"). Она преимущественно состоит из кокков (стрептококки, нейссерии, вейллонеллы) и коротких палочек (дифтероиды). Это, так называемая, «ранняя» зубная бляшка.

4 фаза - до 4 - 5 дней. Характеризуется уменьшением доли грам-положительных кокков и нарастанием доли грам-вариабельных нитевидных форм - лептотрихий, а также грам-отрицательных вейллонелл и фузобактерий. Это фаза может быть охарактеризована как "равновесная" или "динамичная" зубная бляшка. У лиц с хорошими адаптационными способностями, с так называемой "высокой естественной санацией" микробиоценоз зубной бляшки может поддерживаться в этом состоянии на протяжении значительных отрезков жизни, не переходя к следующей фазе (при отсутствии систематической чистки зубов).

5 фаза - от 6 - 7 дней и далее. Зубная бляшка принимает окончательный по составу симбионтов вид, хотя количественные сдвиги в ней происходят постоянно. Резко снижается количество аэробных видов - нейссерий, ротий, факультативно-анаэробных стрептококков. Доминируют грам-отрицательные облигатно-анаэробные бактерии-бактероиды, фузобактерии, вейллонеллы и грам-положительные актиномицеты, микроаэрофильные стрептококки и пептострептококки. Это "зрелая" зубная бляшка. Она характеризует отрицательное гигиеническое состояние полости рта и может индуцировать развитие гингивита у лиц, которые не регулярно чистят зубы.

Общее количество бактерий в зубной бляшке увеличивается от 100-5000 в I фазе формирования до 1 - 10 млн/г во 2 фазе. В 3 фазе формирования, в зависимости от многих факторов, количество бактерий исчисляется десятками и сотнями миллиардов в 1 г.

Установлено, что микробы обладают разной способностью к адгезии даже в отношении различных поверхностей зуба. Кроме того, на процесс адгезии влияют и механические факторы, связанные с процессом жевания, физико-химические условия и т. п. Поэтому на разных поверхностях зубов, в ямках и фиссурах состав микрофлоры несколько отличается, даже в пределах одного зуба.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий - «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу pH среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной и других кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов - декстранов и леванов. У больных кариесом продукция органических кислот значительно выше, а нормализация метаболической активности происходит медленнее.

В последние годы установлена роль некоторых резидентов-участников микробиоценоза зубной бляшки как антагонистов кариесогенных стрептококков.

Прежде всего это относится к вейллонеллам - грам-негативным анаэробным коккам, которые активно утилизируют кислоты. Это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший микрoэкологический фактор кариесрезистентности.

Зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем состав ее несколько отличается и зависит от характера и качества пломбировочного материала. Наиболее богато представлена микробная флора на цементах и амальгамах. Средний уровень колонизации характерен для макрокомполитных пломбировочных материалов. И, наконец, на микрокомполитных и гибридных материалах зубная бляшка формируется плохо из-за низкого аффинитету бактерий. Обычно в составе бляшки на микрокомполитных пломбах определяются лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты в небольшом количестве.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий — «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу рН среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов — декстранов и Леванов.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом, металлическим шпателем или тампоном с последующим взвешиванием на аналитических весах. После этого, в зависимости от задач исследования, проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования. Количество бактерий выражают в колониеобразующих единицах (КОЕ) в грамме материала.

Идентификация выделенных культур до рода и вида позволила выявить существенные различия доли бактерий разных родов в зубной бляшке и на слизистой оболочки полости рта. Так, в составе зубной бляшки доминировали по частоте выделения актиномицеты (20,4 %) и анаэробные кокки рода *Peptostreptococcus* (17,2 %)- По сравнению с частотой выделения со слизистой оболочки в зубной бляшке было также значительно больше альфа-зеленящих стрептококков (почти в 3 раза), лакто- и бифидобактерий (в 9 раз). Бактерии группы бактероидов и рода *Fusobacterium* по частоте выделения конкурировали с доминирующей флорой (14,7 и 5,7 %), однако их доля была значительно меньше, чем при выделении со слизистой оболочки полости рта.

При идентификации штаммов микроорганизмов, выделенных со слизистой оболочки полости рта, доминирующей флорой по частоте встречаемости были бесспорные грам-отрицательные анаэробы группы бактероидов (23,7 %) и рода *Fusobacterium* (14,9 %). При этом надо подчеркнуть, что бактероиды выделялись почти в 2 раза, а фузобактерии - в 2,5 раза чаще, чем из зубной бляшки. Пептострептококки также достаточно часто выделялись со слизистой (15,8 %), хотя несколько реже, чем из зубной бляшки. Частота выделения других кокков - вейллонелл, пептококков, микроаэрофильных стрептококков и стафилококков — практически не отличалась в зубной бляшке и со слизистой.

Обращала на себя внимание значительно более низкая частота выделения со слизистой оболочки актиномицетов, альфа-стрептококков и лактобактерий. Доля факультативно-анаэробных и аэробных бактерий в зубной бляшке и на слизистой практически не различалась.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5.

Тема: Кариесогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при кариесе зубов и его осложнениях. Компьютерная кариограмма.

Учебная цель:

4. Ознакомиться с методикой забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
5. Изучить микрофлору при кариесе.
6. Рассмотреть роль микрофлоры в возникновении и развитии кариеса

План занятия:

6. Особенности микрофлоры полости рта при кариесе зубов.
7. *Streptococcus mutans* и его роль в возникновении кариеса.
8. Экспериментальные подтверждения роли микробов в развитии кариеса.
9. Роль местных факторов резистентности при кариесе. Вакцина для профилактики кариеса.
10. Особенности забора материала из кариозной полости для проведения бактериологического метода исследования.

Самостоятельная работа студентов:

3. Ознакомиться с особенностями забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
4. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур кариесогенных бактерий и их антагонистов:
 - а) демонстрационный мазок из чистой культуры *Streptococcus mutans*. Окр. генцианвиолет;
 - б) демонстрационный мазок из чистой культуры актиномицетов. Окр. генцианвиолет;
 - в) демонстрационный мазок из чистой культуры *Вейллонелл*. Окр. фуксин.
3. Методика количественного определения кариесогенной флоры на примере лактобациллин-теста.
4. оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Демонстрация препаратов *Streptococcus mutans*.
2. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Кариес - это патологический процесс, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости.

В настоящее время известно, что кариозный процесс может развиваться при следующих условиях:

4. Наличие достаточного количества углеводов в пище;
5. Наличие микроорганизмов в полости рта;
6. Контакт углеводов и микроорганизмов с зубами.

Ярким доказательством роли углеводов в возникновении кариозного процесса являются проведенные экспериментальные исследования. Все кариесогенные диеты содержат более 50 % сахарозы. Содержание в рационе экспериментальных животных меньших количеств углеводов либо не вызывает кариозный процесс, либо он развивается медленно.

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что без контакта зубов с углеводами кариозный процесс не возникает. Несомненно, важная роль принадлежит составу и структуре эмали зуба, слюне, а также характеру питания, составу питьевой воды. Изучение микробной флоры при кариесе дало возможность установить определенную последовательность проникновения различных видов микроорганизмов в ткани кариозного зуба, а также выявить сдвиги в составе всей микробной флоры полости рта при кариесе. Микроорганизмы прежде всего начинают проникать в эмаль кариозного зуба уже после разрушения структуры всех ее слоев. При начальных поражениях обнаруживаются также микроорганизмы, которые с точки зрения их биохимической активности могут быть подразделены на две группы: протеолитическую и кислотообразующую.

В протеолитическую группу входят бактероиды и пептококки. Они вырабатывают ферменты, способные расщеплять органические вещества кариозного зуба.

К кислотообразующей группе относятся стрептококки, лактобактерии и актиномицеты. Из числа стрептококков здесь чаще всего присутствуют энтерококки. Все эти микроорганизмы могут участвовать в процессе деминерализации твердых тканей кариозного зуба, т.к. они интенсивно расщепляют углеводы и образуют много органических кислот.

В кариозной полости присутствуют все представители постоянной флоры полости рта, главным образом строгие анаэробы. На кариесогенную активность оральных микроорганизмов влияет слюна - ее агрегирующие факторы, которые, с одной стороны, способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, а с другой - удаляют их при омывании полости рта.

Противокариозным действием обладает система буферов, бикарбонат - карбоновая кислота, а также протеин и спалим, находящиеся в слюне. Профилактика кариеса может быть направлена на уменьшение количества кариесогенных микроорганизмов в полости рта. Эффективно применение различных бактерицидных и бактериостатических препаратов. Хорошие результаты получают с помощью антисептиков, в частности 0,2 % хлоргексидина. При этом количество клеток *S. mutans* в зубных бляшках снижается на 80 - 85 %, а в слюне на 55 %. Покрывая зубную поверхность, хлоргексидин не только оказывает на микроорганизмы бактерицидное действие, но и препятствует их адгезии, не

нарушая при этом микробного равновесия. Угнетающим действием на микроорганизмы обладает фтор и его соединения. Другой путь снижения кислотообразования и накопления глюканов - замена сахарозы другими углеводами, при ферментативном расщеплении которых эти продукты не образуются.

При заборе материала при кариесе для проведения бактериологического исследования необходимо придерживаться некоторых правил:

- а) для устранения доступа слюны в кариозную полость необходимо изолировать зуб, для чего его обкладывают ватными валиками;
 - б) поверхностные слои размягченного дентина необходимо удалить стерильным бором;
 - в) глубокий слой размягченного дентина забирают стерильным экскаватором и производят посев;
 - г) посев производят на соответствующие питательные среды для выделения анаэробной и аэробной микрофлоры.
2. Провести микроскопию демонстрационных мазков из чистых культур *Streptococcus mutans*, актиномицетов, вейллонелл под иммерсией.
3. Лактобациллин-тест производят следующим образом:
нестимулированную слюну собирают натошак в стерильную пробирку. Готовят последовательные разведения слюны в стерильных условиях от 1:10 до 1:10 по 0.1 мл из каждого разведения высевают на плотную селективную питательную среду с низким pH, растирая материал шпателем по всей поверхности агара.
- После инкубирования при 37 град. производят подсчет количества колоний, выросших на поверхности среды и перерасчет на общий объем слюны.
- Например, при разведении слюны 1:10 выросло 10 колоний, значит в 0.1 мл неразведенной слюны содержится 10 000 клеток, а в 1 мл - 100 000 клеток.
- Существует определенная зависимость между количеством кариесогенных бактерий в слюне (лактобациллы, стрептококки) и их антагонистов (вейллонелл), что позволяет дать следующие рекомендации:
- а) применять фтористые препараты для профилактики кариеса;
 - б) ограничить употребление в пищу углеводов;
 - в) усилить гигиену полости рта.
4. Оформление протокола исследований:

Таблица. Забор исследуемого материала из кариозной полости.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6.

Тема: Пародонтопатогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при болезнях пародонта. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.

Тестовый контроль

Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.

План занятия:

1. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
2. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
3. Особенности состава микрофлоры при гингивите
4. Особенности состава микрофлоры при пародонтите
5. Пародонтогенные микробы. Доказательства их участия в патогенезе заболевания
6. Иммунологические изменения, происходящие в ответ на бактериальные антигены и токсины
7. Современные методы лечения заболеваний пародонта в соответствии с последними научными данными
8. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов:

4. Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-отпечатка со слизистой оболочки при язвенно-некротическом стоматите (фузоспирохетоз), окраска по Романовскому.
5. Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-соскоба со слизистой языка при лептотрихозе, окраска по Романовскому.
6. Методы лабораторной диагностики кандидоза.
4. оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

3. Демонстрация препаратов Porf. Gingivalis.
4. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

До настоящего времени не совсем ясен вопрос - является ли пародонтит логическим завершением гингивита. В эксперименте на животных (собаках) удалось продемонстрировать эту последовательность, однако у людей гингивит не всегда переходит в пародонтит.

По поводу механизма развития пародонтита существуют, как минимум, две точки зрения:

1. Существуют определённые микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей пародонта.
2. К развитию пародонтита приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменения в составе и количестве микрофлоры пародонтального кармана.

При темнопольной микроскопии выявляется значительный сдвиг в сторону палочковидных форм и спирохет, количество которых возрастает до 40%. Отношение подвижных форм к неподвижным увеличивается до 1:1 (в норме 1:49).

Электронно-микроскопическое исследование поддесневой бляшки при пародонтите выявило, что к цементу прикреплены, в основном, грамположительные микробы. Грамотрицательные клетки, жгутиковые и спирохеты присутствуют в большом количестве в неплотных слоях поддесневой бляшки, которая распространяется до верхушечной части кармана.

При бактериологическом исследовании материала от больных пародонтитом установлено преобладание грамотрицательных анаэробных палочек, в основном, подвидов несакхаролитических *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* и др. Однако у некоторых больных наблюдали превалирование актиномицетов. Многие виды анаэробных бактерий не удавалось идентифицировать.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к пародонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактериоидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Данные грамотрицательные микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам, гидроксиапатиту и к грамположительным бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. Однако способность к коагрегации с грамположительными бактериями при этом не ингибируется.

При пародонтите характерным является образование микробных скоплений, напоминающих кукурузный початок, которые состоят из кокков и извитых форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных пародонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции комплемента С3, С5, лейкоциты. Ткани десны обильно инфильтрированы плазматическими клетками, лимфоцитами и макрофагами (моноцитами). Все это позволяет считать, что многие реакции антиген-антитело, проявления клеточного иммунитета происходят именно здесь, в тканях пародонта и альвеолярной кости.

Если придерживаться только микробной этиологии пародонтита, то, очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие пародонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.
2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

6. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы-антагонисты пародонтопатогенных бактерий.

7. Микроб должен пространственно локализоваться так, чтобы он или продукты его жизнедеятельности могли действовать на клетки-мишени.

8. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

Понимание этиологии и патогенеза пародонтита необходимо не только для установления роли микробов в этом процессе, но также и для выяснения условий, способствующих росту бляшки, определению роли местных и системных факторов, которые могут влиять на резистентность или чувствительность тканей пародонта к бактериям, продуктам их жизнедеятельности. Изучение индивидуальных особенностей организма хозяина в функционировании деструктивных и защитных механизмов при пародонтите позволяет оптимизировать комплексное лечение данного заболевания.

Микрофлора при периодонтитах - преобладает стрептококковая флора над стафилококковой. В начальных стадиях воспаления это обычно зеленящие и негемолитические стрептококки без группового антигена. При переходе острого периодонтита в хроническую главную роль играет стрептококковая анаэробная флора, т.е. пептострептококки, к которым присоединяются другие стрептококки. В апикальных гранулах обнаруживаются актиномицеты, бактериоиды, фузобактерии, вибрионы и спирохеты.

Микробная флора при парадонтозах.

Парадонтоз является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта и представляет собой воспалительно - дистрофический процесс в альвеолярных отростках, возникающий вследствие нарушения питания альвеол.

По поводу механизма развития парадонтоза существует, как минимум, две точки зрения;

1. Существуют определенные микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей парадонта.

2. К развитию парадонтоза приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменение в составе и количестве микрофлоры парадонтального кармана.

Все воспалительные процессы в парадонте начинаются с образования зубных бляшек, преимущественно субгингивальных, в результате колонизации поверхности зубов факультативными анаэробами.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к парадонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактериоидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella melaninogenica*. Данные Гр - микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам и к Гр + бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. При парадонтите характерным является образование микробных скоплений, которые напоминают кукурузный початок и состоят из кокков и известных форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных парадонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции компонента С₃, С₅, лейкоциты. Если придерживаться только микробной этиологии пародонтита, то очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие парадонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

5. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению

бактерий.

6. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы - антагонисты пародонтопатогенных бактерий.

7. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

1-2. Соскоб со слизистой оболочки, спинки языка можно делать стерильным шпателем, гладилкой. Материал наносится на поверхность предметного стекла, в каплю воды. Окраска по Граму или Романовскому. Перед взятием материала из эрозий и язв целесообразно удалить поверхностный налёт стерильным ватным тампоном, не применяя при этом антисептических препаратов.

При язвенно-некротическом стоматите в мазке наблюдают обилие грам-отрицательных веретенообразных палочек (фузобактерии) и извитых форм (анаэробии-спириллы и спирохеты) на фоне лейкоцитов и слущенного эпителия.

При лептотрихозе в мазке наблюдают скопления грам-вариабельных нитевидных бактериальных форм, причём часть бактерий располагается как б в едином чехле (лептотрихии).

3. Для лабораторной диагностики кандидоза полости рта используют следующие методы:

а) При микроскопическом исследовании мазка-отпечатка со слизистой оболочки больного кандидомикозом можно увидеть: овальные и резко вытянутые клетки дрожжеподобного гриба, расположенные в виде длинных цепочек (псевдомицелий). Не псевдомицелии формируются колбовидные вздутия, от которых отшнуровываются хламидоспоры (признак вида *C.albicans*).

б) При бактериологическом методе исследования материал, полученный от больного, высевают на среды Сабуро (агар-агар, углеводы, пептон) при $t = 37$ град., в течение 3-5 суток. Выросшие колонии на этой среде изучают макроскопически.

Колонии гриба рода *Candida* круглые, беловатые, выпуклые, гладкие с ровными краями, поверхность блестящая. Иногда колония врастает в агар.

При микроскопическом изучении в мазках виден псевдомицелий, состоящий из овальных вытянутых, пальцевидных клеток, расположенных скоплениями. Хламидоспоры круглые, напоминают связки шаров.

в) При висцеральных микозах применяют для диагностики серологические реакции - агглютинации и РСК. Для этих реакций у больного берут сыворотку и определяют наличие антител в сыворотке больного с кандидозным диагностикумом.

Схема реакции агглютинации

Компоненты пробирок	1	2	3	4	5	6	7
1. Физ. р-р	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
2. Исследуемая сыворотка 1:40	1.0 1:80	1.0 1:160	1.0 1:320	1.0 1:640	1.0 1:1280	1.0 1:80	- -
3. Клеточный антиген (диагностикум)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-
УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ							

Учет результатов проводят, начиная с контрольных пробирок (6 и 7). О результатах реакции судят по образованию осадка в опытных пробирках.

4-6. Теоретически разобрать клинические проявления в полости рта при сифилисе, дифтерии, туберкулёзе, герпесе, ящуре пользуясь учебным пособием. Результаты оформить в виде таблицы (по графам: нозологическая форма; возбудитель и его морфология; клинические симптомы в полости рта).

7. Оформление протокола исследования по пп. №1-3.

Таблица. Забор исследуемого материала при пародонтите

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Таблица. Забор исследуемого материала при гингивите

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7.

Тема: Изучение микрофлоры гнойного отделяемого при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области. Техника анаэробного культивирования бактерий с количественным учётом. Способы идентификации и определения чувствительности анаэробов к антибиотикам.

Учебная цель:

7. Техника анаэробного культивирования бактерий с количественным учетом
8. Способы идентификации и определения чувствительности к антибиотикам.
9. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.
10. Особенности этиологии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области (ассоциации, микс- инфекции).
11. Ознакомиться с методами забора и микробиологического исследования материала при острых и хронических воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области.
12. Изучить основных представителей оппортунистической анаэробной инфекции

челюстно-лицевой области.

План занятия:

8. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
9. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
10. Особенности состава микрофлоры при флегмонах ЧЛО.
11. Особенности состава микрофлоры при абсцессах ЧЛО.
12. Преимущества и недостатки важнейших методов определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
13. Показания и противопоказания к применению антибиотиков при заболеваниях ЧЛО.
14. Механизм выработки устойчивости к антибиотикам у бактерий.

Самостоятельная работа студентов:

8. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала из десневого желобка и патологических десневых карманов для микроскопического и бактериологического методов исследования.
9. Микроскопическое исследование демонстрационных мазков из содержимого глубоких пародонтальных карманов. Окраска по Граму.
10. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур "пародонтопатогенных" анаэробных бактерий:
 - а) мазок из чистой культуры *Prevotella melaninogenica*, окраска по Граму;
 - б) мазок из чистой культуры *Actinomyces naeslundii*, окраска по Граму.
11. Разобрать бактериологический метод исследования гнойного экссудата с использованием техники анаэробного культивирования (демонстрация микроанаэрозола, транспортной среды, некоторых сред: тиогликолевая среда, среда с геминем, сердечно-мозговой агар и бульон и др.)
12. Разобрать схему патогенеза воспалительного процесса и зарисовать.
13. Провести бактериологическое исследование материала от больного одонтогенной инфекцией (1-й этап исследования).
14. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

1. Особенности забора исследуемого материала при заболеваниях пародонта.

Для микроскопического исследования содержимое пародонтальных карманов собирают с помощью кюретажной ложечки или целлулоидной пластины. С внутренней стороны пластины - прилипают микробы находящиеся на поверхности корневой части зуба, а с наружной — находящиеся в десневой жидкости.

Для бактериологического исследования содержимое пародонтальных карманов необходимо поместить в транспортную питательную среду с целью сохранения жизнеспособности анаэробных бактерий. В случае исследования суб-гингивальной зубной бляшки, извлеченной из пародонтального кармана, ее необходимо дезинтегрировать перед посевом с помощью ультразвука. Дальнейшее выделение чистых культур, их культивирование и идентификацию проводят в анаэробных условиях по классической

схеме.

2. При микроскопическом исследовании содержимого пародонтального кармана в демонстрационных препаратах выявляют морфологические формы характерные для основных пародонтопатогенных видов - актиномицетов, стрептококков, бактероидов, фузобактерий и спирохет.

3. Детальное изучение морфологии пародонтопатогенных видов бактерий в мазках из чистых культур. Окраска по Граму.

4. Оформление протокола исследований

Таблица. Забор исследуемого материала при абсцессах ЧЛО

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Патологический материал при абсцессах, флегмонах и фасциитах берут пункцией с помощью толстой иглы и доставляют в лабораторию в шприце. В процессе оперативного вмешательства материал забирают с помощью стандартного ватного тампона, который помещают в транспортную среду. Транспортные среды, благодаря особенностям своего состава, обеспечивают резкое снижение метаболизма микробов и возможность длительного сохранения их жизнеспособности (от 6 - 12 часов).

I этап бактериологического исследования - получение изолированных колоний. Обычно выполняется на чашках Петри с 5 % анаэробным гемагаром - питательной средой, которая помимо нативной крови содержит такие факторы роста анаэробных бактерий, как гемин (витамин К) и менадион. Среда является универсальной для роста большинства видов анаэробных и аэробных бактерий.

Чашки Петри с анаэробным гемагаром культивируют в анаэроостате или газбоксе при $t = 37^{\circ}\text{C}$ до 7 - 10 дней, хотя большая часть анаэробов дает хороший рост колоний уже на 3 - 4 день. При макроскопическом и микроскопическом изучении выросших колоний проводят сопоставление морфологии самих бактерий и колоний, которые они формируют при выращивании в анаэроостате и полученных на 5 % кровяном агаре в аэробных условиях.

Принципиальное значение для дальнейшей идентификации имеет проведение теста на наличие каталазы: материал колонии смешивают на предметном стекле с каплей 0,5 % перекиси водорода - активное образование пузырьков газа свидетельствует о наличии у данного микроба фермента каталазы, что обычно характерно для факультативно - анаэробных бактерий. Основные виды облигатно - анаэробных бактерий каталазу не продуцируют.

II этап бактериологического исследования - получение чистой культуры. Выполняется на жидких (тиогликолевая среда, среда Китта - Тароци, сердечно-мозговой бульон) или полужидких средах (с добавлением 6,5 % агар-агара). Материал из изолированной колонии переносят в пробирку с одной из указанных сред, которые затем желательнее поместить в анаэроостат. Чистые культуры получают через 3 - 5 дней культивирования при $t = 37^{\circ}\text{C}$.

III этап бактериологического исследования - идентификация чистой культуры. Для определения вида выделенной культуры используется определение комплекса морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических и хемотаксономических свойств.

Результаты бактериологического исследования заносят в протокол.

острые одонтогенные воспалительные заболевания	абсцесс флегмона остеомиелит лимфаденит	бактероиды, фузобактерии, пептострептококки, пептококки, реже актиномицеты, стафилококки
хронические одонтогенные воспалительные заболевания, актиномикоз		ассоциации облигатных анаэробных бактерий с факультативными анаэробами (стафилококки, бациллы, стрептококки) аэробные и анаэробные актиномицеты (ротии, нокардии и стрептомицеты).
неодонтогенные воспалительные заболевания	фурункул нагноившаяся атерома инфицированные травмы чел.-лиц.области	преобладание стафилококков, стрептококков, реже бацилл и облигатных анаэробов, часто выделяются монокультуры

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8.

Тема: Хронические очаги инфекции. Возбудители туберкулёза и проказы. Особенности диагностики и проявления инфекции в полости рта. Профилактика и лечение туберкулёза и проказы

Учебная цель:

2. Бактериальные инфекции и их проявление в полости рта (туберкулёз).

План занятия:

6. Особенности состава микрофлоры полости рта при туберкулезе.
7. Проявления туберкулеза в полости рта.
8. Особенности забора исследуемого материала при туберкулезе.
9. Методы лабораторной диагностики туберкулеза.
10. Современные методы лечения туберкулеза.

Самостоятельная работа студентов:

3. Теоретический разбор клинических проявлений в полости рта дифтерии и туберкулёза, методов диагностики.
4. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.
2. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Туберкулез слизистой оболочки полости рта и губ вызывается микобактериями туберкулеза, в основном человеческого типа, и обычно является вторичным, реже развивается первичный туберкулез слизистой оболочки полости рта в виде первичного туберкулезного комплекса. Микобактерии туберкулеза могут попадать в слизистую оболочку рта как эндогенным путем так и экзогенным.

Слизистая оболочка полости рта является плохой средой для размножения туберкулезных микобактерий; попав в слизистую оболочку у большинства больных туберкулезом, они гибнут. Если все же возникает ее поражение, то клиническая форма заболевания зависит от ряда факторов, прежде всего от общего течения туберкулезного процесса и иммунологического состояния организма, которое определяют с помощью туберкулиновых реакций. В патогенезе туберкулеза определенную роль играют характер питания, нервно-эндокринные расстройства и др.

Из форм вторичного туберкулеза при поражении слизистой оболочки рта могут наблюдаться туберкулезная волчанка, скрофулодерма и милиарно-язвенный туберкулез, причем, если две первые формы протекают обычно на фоне положительных туберкулиновых реакций, то малерийно-язвенный туберкулез возникает преимущественно на фоне анергии, т. е. на фоне отрицательных туберкулиновых реакций.

Первичный туберкулез губ и слизистой оболочки полости рта. Первичный туберкулез, или первичный туберкулезный комплекс, или первичный туберкулезный шанкр, на губах и слизистой оболочке рта встречается редко, в основном у детей. Он возникает в результате экзогенного заражения, которое происходит чаще воздушно-капельным, реже алиментарным путем. Эта форма туберкулеза может развиваться только у людей, у которых в организме нет микобактерий туберкулеза и туберкулиновые реакции отрицательные.

После инкубационного периода, продолжительность которого 8—30 дней, на месте входных ворот инфекции возникает болезненное изъязвление размером до 1—1,5 см с подрытыми неровными краями с грязно-серым дном. Дно и края язвы немного уплотнены, однако на губах уплотнение может быть значительным. Через 2—4 недели после образования язвы увеличиваются и уплотняются подчелюстные лимфатические узлы. Сначала они подвижны, а затем спаиваются между собой и с кожей. Часто через некоторое время эти узлы нагнаиваются и вскрываются.

Туберкулезная волчанка. Среди туберкулезных заболеваний слизистой оболочки рта и губ туберкулезная волчанка является наиболее частым, упорным, склонным к рецидивам, хронически текущим заболеванием. Излюбленной локализацией туберкулезной волчанки является лицо, которое поражается примерно у 75% больных, причем очень часто в процесс вовлекаются красная кайма верхней губы, на которую процесс обычно переходит с носа. Однако может быть и изолированное поражение красной каймы верхней губы.

Первичным элементом при туберкулезной волчанке является бугорок (люпома). Люпома представляет собой ограниченное, в начале плоское, величиной с булавочную головку или чуть больше красное или желтовато-красное мягкое безболезненное образование, склонное к периферическому росту и слиянию с соседними элементами. В результате слияния люпом образуются очаги поражения, имеющие разные размеры и очертания.

Очаги волчанки на красной кайме губ и особенно на слизистой оболочке рта изъязвляются. Края образующихся при этом язв изъеденные, неправильной формы. Дно язвы покрыто либо грязно-серым налетом, либо папилломатозно разрастающимися грануляциями, иногда они напоминают яркую сочную малину. На красной кайме губ на поверхности язвы нередко образуются корки, иногда очень толстые.

На месте поражения остается поверхностная рубцовая атрофия; характерно повторное возникновение на таком рубце отдельных люпом. В местах изъязвления могут образоваться грубые, уродующие рубцы. Язвенный волчаночный процесс, хотя и редко, приводит к значительным разрушениям тканей.

Во второй стадии на фоне отека и гиперемии появляются отдельные мелкие бугорки, которые представляют собой сосочковые разрастания, покрытые слегка потускневшим эпителием. Сливаясь друг с другом, они могут напоминать бородавчатые разрастания. В последующем у большинства больных бугорки распадаются с образованием язвы, которая бывает разной величины, неправильных очертаний, часто с изъеденными, но неподрытыми краями, с грануляциями на дне и нешироким воспалительным бордюром вокруг, на фоне которого нередко можно видеть отдельные сохранившиеся бугорки, а также эрозии. В отделяемом из язв, как правило, микроскопически не удастся обнаружить туберкулезные микобактерии. При завершении процесса образуются рубцы, причем если процесс протекал без изъязвления, то они гладкие, блестящие, атрофические. После изъязвления рубцы плотные, грубые, спаивают слизистую оболочку с подлежащими тканями.

Клиническая картина туберкулезной волчанки имеет некоторые особенности, связанные с локализацией процесса. По месту расположения поражения на слизистой оболочке десны различают четыре вида поражений: 1) маргинальное, охватывающее десневой край сначала в виде банальной инфильтрации и переходящее затем в бугорково-эрозивную (язвенную) форму; при этом десневой край и межзубные сосочки резко припухают, рисунок десневого края сглаживается, слизистая оболочка десен приобретает ярко-красный цвет. Десна представляется как бы истыканной булавками, безболезненна, матовая, тусклая, легко кровоточит; 2) супрамаргинальное: инфильтративное или бугорково-язвенное поражение не затрагивает десневую кайму; 3)

тотальное: процесс захватывает всю наружную поверхность десен по типу инфильтративной, чаще эрозивной, а иногда и язвенной волчанки. При этой форме часто поражается костная ткань альвеолы, может развиваться «картина гипертрофического люпозного гингивита»; 4) билатеральное, протекающее по типу язвенной волчанки.

Лечение туберкулеза слизистой оболочки полости рта, являющегося одним из проявлений общего туберкулеза, проводят по общепринятым методикам лечения туберкулеза обычно в противотуберкулезных диспансерах. Наиболее эффективными средствами лечения туберкулезной волчанки являются препараты гидразида изоникотиновой кислоты (фтивазид, изониа-зид, или тубазид, салюзит, мета-зид, ларусан, ИНГА-17 и др.), которые оказывают на микобактерии туберкулеза не только бактериостатическое, но и бактерицидное действие.

Прогноз у больных туберкулезом слизистой оболочки полости рта в настоящее время, при наличии мощных противотуберкулезных средств, хороший, но больные должны длительное время, до полного излечения, находиться под диспансерным наблюдением. В раннем выявлении больных туберкулезом слизистой оболочки полости рта, в направлении их на лечение в противотуберкулезные учреждения, в организации диспансерного наблюдения большая роль принадлежит стоматологам. Это связано с тем, что туберкулезная волчанка и милиарно-язвенный туберкулез могут начинаться и длительно существовать только на слизистой оболочке полости рта, в связи с чем больные, естественно, обращаются к стоматологу.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9.

Тема: Микробиологическая диагностика дисбиоза полости рта и стоматитов. Дисбиозы и оппортунистические стоматиты. Оппортунистические процессы как проявления иммунодефицитов и ВИЧ-инфекции. Лабораторная диагностика кандидоза, лептотрихиоза, фузоспирохетоза.

Учебная цель:

6. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
7. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.
8. Бактериальные инфекции и их проявление в полости рта (гонококковый гингивостоматит).
9. Освоить методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта.
10. Освоить методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при неспецифических заболеваниях слизистой оболочки полости рта

План занятия:

1. Особенности забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.
3. ВИЧ-инфекция. Проявления в полости рта.
4. Кандидоз. Лабораторная диагностика кандидоза.
5. Лептотрихиоз. Лабораторная диагностика.
6. Фузоспирохитоз. Лабораторная диагностика.

Самостоятельная работа студентов:

3. Теоретический разбор клинических проявлений в полости хейлитов, глосситов, стоматитов, ВИЧ-инфекции, методов диагностики.
4. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.
2. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Вирусы являются наиболее частой причиной инфекционных заболеваний (корь, эпидемический паротит, краснуха, грипп, ветряная оспа, гепатит, СПИД и др.).

Другой вирус, для которого парентеральный путь передачи также может быть основным, - это вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус ВИЧ поражает лимфоциты (Т-хелперы) и макрофаги. При длительной репродукции вируса в организме популяции хелперов сокращается, в пораженных макрофагах снижается выработка интерлейкина-1. Кроме иммунной системы страдают другие органы и системы: нервная система, органы пищеварения и дыхания, сердечно-сосудистая система и др. На фоне иммунодефицита развивается саркома Капоши и оппортунистические болезни (кандидомикоз, язвенно-некротический стоматит, цитомегаловирусная инфекция, герпес, пневмоцистоз).

Источниками вируса являются больные и вирусоносители. Возможен парентеральный путь заражения при использовании инфицированной вирусом крови при различных хирургических вмешательствах, переливании крови и пр., а также при половом контакте. Зарегистрированы случаи заражения плода во внутриутробном периоде.

Диагностика проводится главным образом серологическим методом, путем выявления антител с помощью иммуноферментного анализа.

Таким образом, пришедшие на прием пациенты с кандидомикозом, рецидивами герпеса, язвенно-некротическим поражением должны быть обязательно проверены на заражение ВИЧ. Особую опасность представляют больные группы риска - гомосексуалисты, проститутки, наркоманы, больные, которым часто переливали кровь (гемофилия).

Врач - стоматолог может заразиться вирусом от пациента воздушно -капельным путем и при пальцевом обследовании, также как и сам врач при своих манипуляциях может заразить больного (гепатит В, СПИД).

Дополнительно необходимо отметить, что примерно около 46 % пациентов на приеме могут быть носителями в полости рта *Streptococcus ruogeus*, *Staphul. aureus*. Они могут явиться причиной развития у врача различных респираторных заболеваний, а также вызвать воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая то, что многие из стафилококков являются антибиотико - резистентными, попадание этих микробов может затруднить процесс лечения.

Лепра

Лепра (проказа) вызывается лепрозными микобактериями Ганзена и представляет собой хроническую генерализованную инфекцию, развивающуюся преимущественно в дериватах эктодермы и в органах и тканях, богатых элементами активной мезенхимы. Лепра протекает хронически-прогрессивно с периодическими обострениями (лепрозные реакции), приводя при отсутствии рационального лечения к тяжелой инвалидности и через много лет к смерти.

Выделяют туберкулоидный и лепроматозный типы лепры. Возникновение того или иного типа заболевания связано с состоянием сопротивляемости организма человека к лепрозной инфекции, которое определяют с помощью лепроминовой кожной пробы. Поражения слизистой оболочки полости рта могут возникнуть лишь при лепроматозном типе, который развивается у лиц с резко пониженной реактивностью (лепроминовая проба отрицательная). У таких больных на коже, слизистой оболочке рта, внутренних органов, по ходу нервных стволов возникают лепроматозные инфильтраты с лепрозными клетками, не способными (в отличие от туберкулоидного типа) разрушать фагоцитированные ими палочки Ганзена, поэтому они беспрепятственно размножаются в этих клетках.

Лепрозный процесс на слизистой оболочке рта начинается с инфильтративной стадии, затем на этом фоне возникают бугорковые высыпания, которые через некоторое время изъязвляются. Процесс заканчивается рубцеванием. Очень часто на слизистой оболочке рта у одного и того же больного можно наблюдать элементы, характерные для всех четырех стадий развития лепрозного поражения слизистой оболочки, т. е. инфильтрацию, бугорки, язвы и рубцы. Клиническая картина лепрозного поражения слизистой оболочки рта отличается полиморфизмом, каждая из четырех стадий характеризуется описываемыми признаками.

Лепрозные изменения слизистой оболочки рта начинаются с образования поверхностного ограниченного инфильтрата, слегка возвышающегося над окружающей слизистой оболочкой и имеющего серовато-белый цвет, иногда с темно-синими

участками. Затем на инфильтрированных участках возникают бугорки различной величины — от просяного зерна до вишневой косточки. Вначале бугорки плотноватые, затем размягчаются. Они расположены бессистемно и склонны к периферическому росту и слиянию. Бугорки большей частью матово-розового, иногда серовато-розового цвета. Их поверхность обычно блестящая. Чаще всего бугорки возникают на твердом и мягком небе, языке и губах. Через некоторое время бугорки обычно изъязвляются. Язвы на месте бугорков вначале небольшие, дно их бугристое, грязно-серо-белого цвета, края неровные, припухшие, мягкой консистенции. Иногда язвенный процесс распространяется на костную ткань, вызывая ее расплавление. Чаще всего при этом разрушается альвеолярный край челюсти. В последующем язвы рубцуются, однако рубцы могут развиваться без предшествующего изъязвления бугорков, когда бугорок или инфильтрат слизистой оболочки рта фиброзируются. Образование рубцов еще не означает выздоровление, ибо одновременно могут возникать новые инфильтраты, бугорки и язвы. Лепрозные рубцы на слизистой оболочке полости рта могут быть круглые или в виде полос — лучистые. Рубцы гладкие, блестящие, белого цвета. Образовавшиеся рубцы в зависимости от их размеров и места расположения могут вызвать функциональные расстройства. Особенно часто деформируется мягкое небо и язычок, который может сместиться, а иногда даже исчезнуть.

Лепрозные поражения могут возникать и на губах. При этом очень часто образуется выраженный инфильтрат, сопровождающийся отеком, что влечет за собой образование лепрозного элевантиаза. Губа уплотняется, становится более толстой, валикообразной и малоподвижной. Кожа губ и красная кайма по цвету мало отличаются друг от друга. На этом фоне возникают хорошо контурированные бугорки.

Лепрозные изменения на внутренней поверхности губ начинаются с диффузной эритемы, затем возникает инфильтрация, имеющая вид синюшных пятен, покрытых утолщенным эпителием. На этом фоне иногда возникают бугорки, которые почти не выступают над слизистой оболочкой. Лепрозные бугорки на губах могут долгое время оставаться без изменения, но иногда они изъязвляются. Образующиеся неглубокие безболезненные язвы расположены на поверхности бугорков. Их отделяемое засыхает в светло-желтые корки.

Язвенное поражение слизистой оболочки губ всегда заканчивается рубцеванием с деформацией губ, в результате чего губа становится тоньше, ротовое отверстие может сузиться. Если же глубоко расположенные бугорки фиброзируются, то губа сморщивается, вследствие чего затрудняется речь, кожа губ в этих случаях бывает испещрена бороздами, а красная кайма губ становится морщинистой. Лепрозные изменения слизистой оболочки губ редко доходят до переходной складки.

Излюбленной локализацией лепрозных высыпаний являются десны на верхней челюсти со стороны языка в области фронтальных, реже коренных зубов. Лепрозные изменения на деснах начинаются с образования инфильтрата. Десны как бы набухают, делаются рыхлыми, красными, иногда цианотичными, слегка кровоточат; десневые сосочки припухают, рисунок десневого края сглаживается. Очень часто к этому присоединяется усиленное слюнотечение. Вскоре слизистая оболочка десны становится матовой, на ее поверхности образуются язвочки, которые затем рубцуются, что приводит к сморщиванию десневого края и завороту его внутрь. Десны ретрагируются, корни зубов обнажаются. Одновременно с рубцеванием на других участках десен может появиться свежий инфильтрат. Характерна безболезненность процесса.

Лепрозные изменения на слизистой оболочке твердого неба происходят следующим образом: в тех случаях, когда поражение начинается на передней трети, вначале отмечается инфильтративная стадия, инфильтрат образуется позади шеек центральных резцов и доходит до клыков. Участок инфильтрированной слизистой оболочки по направлению назад суживается и чаще заканчивается у начала средней трети твердого неба, в результате чего образуется треугольник, основанием

обращенный вперед, а вершиной назад. Значительно реже инфильтрат по направлению назад суживается до полоски шириной 2 см и по средней линии распространяется до мягкого неба. Инфильтрат на боковых поверхностях твердого неба наблюдается крайне редко. Инфильтрированный участок большей частью имеет серовато-красный цвет и совершенно безболезнен. Затем на инфильтрированных участках возникают серовато-белые бугорки величиной с просяное зерно, которые впоследствии поверхностно изъязвляются.

На мягком небе поражение начинается с гиперемии, переходящей в инфильтрат темной окраски. Иногда мягкое небо вначале имеет бледно-желтый цвет. Язычок обычно инфильтрируется, размеры его увеличиваются. На инфильтрированных участках мягкого неба и язычка появляются беловато-серые, фокусно расположенные бугорки различной величины — от просяного зерна до горошины. Затем бугорки распадаются и образуются язвочки. Иногда отдельные язвочки сливаются, образуя большей или меньшей величины сплошные язвенные поверхности. Края язв слегка приподняты и подрыты, дно бугристое с сероватым налетом. Цвет их грязно-серовато-белый. Вследствие язвенного поражения обычно разрушается часть или весь язычок. Язвенный процесс на твердом и мягком небе заканчивается рубцеванием. Образующиеся рубцы имеют разнообразную форму: иногда они круглые, но чаще лучистые или звездчатые. Рубцы обычно блестящие, поверхностные, беловатого цвета.

Рубцовое стяжение на твердом небе вблизи шеек передних зубов ведет к сморщиванию десны и ретракции ее с обнажением корней зубов. Края ретрагированной десны заворачиваются внутрь в сторону корней, плотно обхватывая их. Рубцы на мягком небе иногда образуют дугу, выпуклой частью обращенную вперед. Фиброзирование в области мягкого неба часто вызывает стойкие деформации, из-за чего мягкое небо может подтягиваться кверху, суживая вход в носоглотку. Иногда мягкое небо совершенно разрушается.

Излюбленной локализацией лепрозных элементов на языке является средняя линия его спинки, начиная от корня и до кончика. Язык может инфильтрироваться, увеличиваться, утолщаться, в результате чего его подвижность затрудняется и речь становится малопонятной. На инфильтрированной поверхности спинки языка появляются плотные бугорки различной величины, но не больше боба, с плоской поверхностью и широким основанием. Поверхность бугорков блестящая, покрыта беловатым налетом благодаря слущиванию эпителия («серебряный» язык). Число бугорков может увеличиваться, и они могут сливаться (лепрозный глоссит), в результате чего на спинке языка образуются валикообразные возвышения с глубокими бороздами между ними.

Бугорки на языке склонны к распаду и изъязвлению. Образовавшиеся язвы располагаются поверхностно и имеют зубчатые, подрытые, инфильтрированные края. Дно язв неглубокое, шероховатое, покрыто сероватым налетом. В некоторых случаях эти язвы сливаются, образуя сплошную язвенную поверхность, покрытую тонким серым налетом. Возникающие на месте язв различной формы поверхностные рубцы обычно имеют серовато-белый цвет и блестящую поверхность.

Для диагностики лепры применяют бактериоскопические исследования соскоба со слизистой оболочки носовой перегородки, а также со дна и краев лепрозных язв, в которых легко обнаруживают палочки Ганзена.

Лепрозное поражение слизистой оболочки полости рта может напоминать третичный сифилис и туберкулезную волчанку. От проявления туберкулезной волчанки и колликувативного туберкулеза лепрозные высыпания отличаются большей плотностью, наличием выраженных расстройств чувствительности и лепрозных микобактерий в отделяемом изъязвившихся элементов.

Наиболее эффективными противолепрозными средствами являются препараты сульфонового ряда, такие, как диамино-дифинил-сульфон (ДС), авлосульфон, дапсон,

сульфетрон (соллюсульфон, новотроп), которые принимают в течение длительного времени. Такое же действие, как сульфоны, оказывает менее токсичный препарат тиокарбонилд (производное тиомочевины). Не потеряли значение чаулмугровое масло и его производные, в частности этиловые эфиры и мугроль. В целях успешного лечения больных лепрой всегда следует применять комбинированную терапию всеми известными антилепрозными средствами в сочетании с общеукрепляющими препаратами и физиотерапией.

Прогноз при лепре в последние десятилетия в связи с введением в практику лечения этого заболевания новых, достаточно эффективных препаратов стал лучше. Основным мероприятием общественной профилактики лепры является раннее выявление и быстрая изоляция больных лепрой в специальные учреждения — лепрозории, где больные лечатся, живут и работают. При обнаружении больного или подозрительного на заболевание лепрой врач немедленно должен сообщить об этом органам здравоохранения. При подтверждении диагноза лепры больной с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных инструкцией Народного Комиссариата путей сообщения — Народного Комиссариата здравоохранения от 19/IV 1944 г., должен быть доставлен в лепрозорий.

В зависимости от локализации воспалительного процесса поражение слизистой оболочки полости рта называется различно: стоматит (слизистая щек), глоссит (язык), гингивит (десны), хейлит (губы). Стоматиты обычно являются либо следствием различных дистрофических процессов в организме, инфекционных или соматических заболеваний, либо результатом повреждающего физического или химического воздействия на слизистую при вторичной роли резидентной микрофлоры. При поверхностных катаральных стоматитах обычно обнаруживают Гр + аэробные кокки и палочки, при глубоких стоматитах преобладает строго анаэробная Гр - флора (фузобактерии, бактероиды, пептострептококки).

При язвенно-некротических стоматитах преобладает анаэробная флора, преимущественно фузобактерии и спирохет, однако могут присутствовать и другие микроорганизмы (вейллонеллы, пептострептококки, бактероиды, вибрионы, актиномицеты). К фузоспирохетозам также относят язвенно - некротическую ангину Венсана, ангину Людвига, гангрену легкого, язвенный колит и др.).

В последние годы отмечается рост заболеваемости кандидомикозом. Это связано с широким применением антибиотиков, кортикостероидов, цитостатиков. Длительное их применение приводит к нарушению состава нормальной микробной флоры (дисбактериоз). Грибы кандиды являются резидентом слизистых оболочек полости рта, пищеварительного тракта, дыхательных путей, влагалища, кожных покровов.

Процесс взаимоотношения дрожжевых клеток с эпителиальными клетками слизистой оболочки рта начинается с их адгезии. Сахароза, мальтоза, глюкоза и другие углеводы повышают активность адгезии. Адгезивность дрожжеподобных грибов рода *Candida* во многом определяет их вирулентность.

Система комплемента, которая активизируется маннаном клеточной стенки дрожжей, ингибирует их адгезию. Дрожжеподобные грибы способствуют разрушению зубной эмали и развитию кариеса. Кариозные зубы, в которых вегетируют дрожжевые клетки, можно рассматривать, как своеобразную экологическую нишу-, благодаря которой они могут участвовать в развитии микотических тонзиллитов и стоматитов. Местные проявления кандидоза или первичный кандидоз в полости рта протекает в форме острого псевдомембранозного кандидоза (молочницы), острого или хронического кандидоза и гиперпластического кандидоза.

Гонококковый стоматит

Гонококковое поражение слизистой оболочки полости рта — гонококковый стоматит — встречается редко. Заболевание возникает у новорожденных при попадании гонококков в полость рта ребенка во время родов при прохождении через инфицированные родовые пути матери. Возможно занесение инфекции от ухаживающего персонала и других больных.

Обычно наблюдается одновременное поражение гонококком слизистой оболочки рта, носа и конъюнктивы. Гонококковый стоматит наблюдали также у взрослых (Besionck, Janet и др.). Гонококковые стоматиты встречаются чаще, чем принято считать, но они остаются нераспознанными, потому что, во-первых, осмотр полости рта и носа у большинства больных гонореей не производят, во-вторых, стоматологи и отоларингологи, к которым чаще всего обращаются больные, незнакомы с этим заболеванием, и, в-третьих, гонорейный стоматит чаще протекает без субъективных ощущений, склонен к самоизлечению, и больные исчезают из-под наблюдения врачей.

В последние годы возросло количество сообщений о выявлении экстра-генитальной гонореи у взрослых. При этом чаще поражаются глотка и миндалины, реже встречаются стоматит, гингивит, ларингит. Поражение слизистой оболочки рта выявляется главным образом у мужчин-гомосексуалистов и лиц, имевших орорегенитальные контакты.

Течение гонореи слизистой оболочки полости рта и глотки, как правило, асимптомное. У детей акт сосания при этом не нарушен. У взрослых больных в редких случаях отмечается боль в горле, повышается температура тела. Первые симптомы гонококкового стоматита — гиперемия, отек, небольшие эрозии на слизистой оболочке и вязкий слизисто-гнойный более или менее обильный секрет. В более тяжелых случаях при отсутствии лечения процесс может распространяться, появляется большое количество эрозий и язв на слизистой оболочке щек, языка, десен. Язвочки поверхностные, небольших размеров, с неправильными, неподрытыми или мало подрытыми краями, мягкие, малоболезненные, с необильным желто-серым отделяемым, в котором обнаруживают гонококки, что подтверждает диагноз.

Гистологически определяется воспалительный процесс в подэпителиальной соединительной ткани с инфильтрацией лимфоцитами, нейтрофилами, плазматическими клетками.

Лечение гонорейного стоматита проводят антибиотиками в тех же дозах, что и гонорейного поражения мочеполовых органов. Местно назначают полоскания 0,01—0,1 % раствором перманганата калия.

Профилактика гонорейного стоматита у новорожденных, родившихся от матерей, больных гонореей, состоит в обработке слизистой оболочки рта новорожденных тотчас после рождения 2% раствором нитрата серебра. У взрослых больных, страдающих гонореей мочеполовых органов, следует осматривать слизистые оболочки полости рта и глотки, при показаниях проводят исследование отделяемого на гонококк

Лабораторный диагноз осуществляется путем использования следующих методов:

3. Микроскопическое исследование (световое, люминесцентное) патологического материала (налета, кусочков органов и т.д.) и обнаружение молодого или зрелого псевдомицелия.

4. Бактериологическое исследование - посев материала на среду Сабуро, томатный бульон и рисовый агар с идентификацией выделенной культуры.

3. Серологический метод - постановка реакций агглютинации и связывания комплемента с сывороткой крови больного с целью обнаружения антител.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.

5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом ----- 15мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10.

Тема: Инфекционные стоматиты и диагностика проявлений бактериальных и вирусных инфекционных болезней в полости рта. Лабораторная диагностика дифтерии, гонореи, сифилиса. Профилактика и лечение.

Лабораторная диагностика герпетических, коксаки- и эхо-вирусных стоматитов.

Принципы профилактики.

Учебная цель:

5. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
6. Особенности состава микрофлоры при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе причины их возникновения.
7. Освоить методику забора исследуемого материала для микроскопического исследования при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе.
8. Освоить методику забора исследуемого материала для бактериологического исследования при дифтерии, гонорее, сифилисе, герпесе.

План занятия:

6. Инфекционные стоматиты. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика.
7. Дифтерия. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
8. Гонорея. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
9. Сифилис. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.
10. Герпес. Проявления в полости рта. Лабораторная диагностика. Профилактика. Лечение.

Самостоятельная работа студентов:

3. Теоретический разбор клинических проявлений в полости дифтерии, гонореи, сифилиса, герпеса, методов диагностики.
4. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.
2. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Сифилис — хроническое инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой. Сифилис характеризуется весьма своеобразным течением: во-первых, волнообразной сменой активных проявлений и периодов скрыто протекающей инфекции; во-вторых, постепенным и последовательным изменением клинической и патологоанатомической картины поражений органов и тканей от слабовыраженных воспалительных явлений до образования специфических глубоких инфекционных гранулем, сдавливающих и разрушающих органы и ткани, в которых они локализуются, что приводит к потере функции органа, а иногда и к смерти больного.

Различают приобретенный и врожденный сифилис. Врожденный сифилис возникает при попадании бледной трепонемы в организм плода через плаценту от больной сифилисом матери. Для заражения человека сифилисом необходимо проникновение бледной трепонемы через кожу или слизистую оболочку, целостность которой нарушена.

Обычно заражение происходит половым путем. Внеполовое заражение может быть профессиональным, например, у медицинских работников во время операций, вскрытии, стоматологического или гинекологического осмотра и т.д., или произойти при пользовании общей посудой, губной помадой, мундштуками и др.

В связи с волнообразным течением сифилиса, разным характером клинических и морфологических изменений, возникающих на различных этапах заболевания, различают инкубационный, первичный, вторичный и третичный периоды приобретенного сифилиса, а также скрытый, в том числе неведомый, висцеральный сифилис и сифилис нервной системы.

Инкубационный период сифилиса в среднем равен 3—4 нед., однако возможно как его укорочение (до 10—12 дней), так и удлинение (до 6 мес), которое обычно связано с приемом во время инкубации небольшого количества антибиотиков по поводу интеркуррентных заболеваний или гонореи.

Первичный период сифилиса начинается с возникновения на месте заражения, т.е. внедрения бледной трепонемы, твердого шанкра (первичная сифилома). Первичный период длится 6—7 нед. Спустя 5—7 дней после образования твердого шанкра появляется второй неперенный симптом первичного периода — увеличиваются регионарные лимфатические узлы (бубон, или регионарный склераденит). В этих узлах происходит бурное размножение трепонемы. Из лимфатических узлов по лимфатическим путям уже в начале первичного периода трепонемы попадают в кровь, в ответ на это постепенно начинают вырабатываться антитела, которые в конце 3-й недели первичного периода сифилиса можно определить в крови с помощью классических серологических реакций (реакция Вассермана, осадочные реакции), несколько раньше — с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ), а несколько позднее - и с помощью реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ, или РИТ).

Примерно у 20% больных к концу первичного периода сифилиса развиваются общие симптомы (повышение температуры тела до 38—38,5°C, слабость, головная боль, боли в костях, особенно по ночам), в периферической крови наблюдаются небольшая анемия, лейкоцитоз, увеличение СОЭ. Спустя 4—6 дней на этом фоне на коже туловища, а нередко и на слизистой оболочке полости рта появляется сыпь, что свидетельствует об окончании первичного и начале вторичного периода сифилиса.

Слизистая оболочка полости рта и красная кайма губ являются локализацией сифилитических высыпаний во всех стадиях заболевания, в том числе и при первичном сифилисе. При внеполовых заражениях локализация шанкра на губах и слизистой оболочке полости рта встречается наиболее часто. Твердый шанкр может возникнуть на любом участке красной каймы губ или слизистой оболочки полости рта, но чаще всего он локализуется на губах, языке, миндалинах.

Развитие твердого шанкра на губе или слизистой оболочке полости рта, как и на других местах, начинается с появления ограниченной красноты, в основании которой в течение 2—3 дней возникает уплотнение за счет воспалительного инфильтрата. Это ограниченное уплотнение постепенно увеличивается и достигает обычно 1—2 см в диаметре. В центральной части поражения происходит некроз и образуется эрозия мяско-красного цвета, реже — язва. Достигнув полного развития в течение 1—2 нед, твердый шанкр на слизистой оболочке обычно представляет собой круглую либо овальную безболезненную эрозию мяско-красного цвета или язву с блюдцеобразными краями размером от 3 мм (карликовые шанкры) до 1,5 см в диаметре с плотноэластическим инфильтратом в основании. В соскобе поверхности шанкра легко обнаруживаются бледные трепонемы. Иногда эрозии покрыты серовато-белым налетом. При расположении шанкра на губах иногда образуется значительный отек, вследствие которого губа отвисает, а шанкр

держится дольше, чем на других местах. Чаще развивается один твердый шанкр, реже - два и более. Если присоединяется вторичная инфекция, то эрозия может углубляться, при этом образуется язва с грязно-серым некротическим налетом.

На языке твердый шанкр обычно бывает одиночным, возникает чаще в средней трети. Помимо эрозивной и язвенной форм, у лиц со складчатым языком, при локализации твердого шанкра вдоль складок может возникнуть щелевидная форма. При расположении твердого шанкра на спинке языка из-за значительного инфильтрата в основании шанкр обычно резко выступает над окружающей тканью, на его поверхности имеется мясо-красная эрозия. Обращают на себя внимание отсутствие воспалительных явлений вокруг шанкра и его безболезненность.

Твердый шанкр в области десен имеет вид ярко-красной гладкой эрозии, которая в виде полулуния окружает один-два зуба. Язвенная форма твердого шанкра десны очень сходна с банальным изъязвлением и почти не имеет каких-либо признаков, характерных для первичной сифиломы. Диагностику облегчает наличие бубона в подчелюстной области.

При локализации на миндалине твердый шанкр может иметь одну из трех форм: язвенную, ангиноподобную (амигдалит) и комбинированную — язвенную на фоне ангиноподобной. Поражается миндалина на одной стороне. При язвенной форме миндалина увеличена, плотная, на этом фоне наблюдается мясо-красная овальная язва с пологими ровными краями. Слизистая оболочка вокруг язвы гиперемирована. Процесс сопровождается болевыми ощущениями, иногда значительными. При ангиноподобном шанкре эрозия или язва отсутствует, имеется одностороннее значительное увеличение миндалины. Она приобретает медно-красный цвет, безболезненная, плотная. Процесс отличается от ангины односторонностью поражения, отсутствием болей и острой воспалительной гиперемии. Общих явлений нет, температура тела нормальная.

Шанкр на губах следует дифференцировать от простого пузырькового лишая, при котором в отличие от сифилиса высыпаниям предшествует жжение или зуд, эрозия располагается на гиперемированном, слегка отечном основании и имеет микрополициклические очертания. Кроме того, при пузырьковом лишае эрозивным высыпаниям предшествуют пузырьки, которые никогда не возникают в процессе формирования шанкра. В отличие от твердого шанкра герпетические эрозии почти всегда характеризуются быстрым возникновением и быстрой эпителизацией, кроме того, герпес в отличие от твердого шанкра часто имеет рецидивирующее течение. Следует учесть, что при длительном существовании герпетической эрозии на губе в ее основании появляется инфильтративное уплотнение, что усиливает сходство эрозии с первичной сифиломой.

Вторичный период сифилиса начинается через 6—7 нед. после появления твердого шанкра, когда на фоне симптомов, свойственных первичному периоду сифилиса (твердый шанкр, регионарный склераденит, полиаденит), появляется обильная розеолезно-папулезная сыпь. Вторичный период сифилиса продолжается в течение 3—5 лет и сопровождается положительными серологическими реакциями. Особенностью вторичного периода сифилиса является волнообразное течение, когда периоды активного проявления болезни сменяются периодами скрытого, бессимптомного течения болезни, причем продолжительность каждого из этих периодов индивидуальна (в среднем по 1,5—2 мес).

Активная стадия заболевания, развивающаяся в начале вторичного периода сифилиса вследствие генерализации инфекции, характеризуется большим количеством розеолезно-папулезных, а иногда и пустулезных высыпаний, полиаденитом, склераденитом, остатками твердого шанкра и носит название – вторичный свежий сифилис. К концу периода вторичного свежего сифилиса разрешается твердый шанкр, исчезают розеолезно-папулезные высыпания, ликвидируется регионарный склераденит и полиаденит.

Слизистая оболочка полости рта является частым местом локализации сифилидов вторичного периода, причем при вторичном рецидивном сифилисе

высыпания во рту могут быть единственным клиническим проявлением болезни. Почти у половины больных с явлениями вторичного сифилиса наблюдаются поражения слизистой оболочки рта в виде розеолезных и папулезных элементов, пустулезные высыпания на слизистой оболочке рта возникают крайне редко.

Розеолезные высыпания на слизистой оболочке рта возникают симметрично на дужках, мягком небе, языке и миндалинах. Особенностью розеолезных высыпаний в этой области является то, что они сливаются в сплошные очаги поражения (эритематозная ангина). Пораженная область имеет застойно-красный цвет, иногда с медным оттенком, резкие границы. Слизистая оболочка в этой области слегка отечна; больные ощущают неловкость при глотании, болезненность, но субъективные ощущения могут и отсутствовать. Разрешение эритематозной ангины начинается с центральной части.

Наиболее частым проявлением вторичного сифилиса на слизистой оболочке рта являются папулезные высыпания. Они могут возникать в любом месте слизистой оболочки, но чаще на миндалинах, дужках, мягком небе, где нередко папулы сливаются в сплошные очаги поражения (папулезная ангина), языке, слизистой оболочке щек, особенно по линии смыкания зубов, деснах и т.д. Вид папул зависит от длительности их существования. Вначале папула - резко ограниченный темно-красный очаг размером до 1 см в диаметре с небольшим инфильтратом в основании. Спустя некоторое время образующийся в результате происходящего воспаления экссудат пропитывает покрывающий папулу эпителий, и она приобретает весьма характерный вид.

Третичный период сифилиса наблюдается далеко не у всех больных, даже если они не лечатся. Он начинается через 4—6 лет после начала заболевания в связи с изменением реактивности организма, чувствительности его к бледной трепонеме и т.д. и имеет злокачественное течение. Третичный период может продолжаться десятилетиями, характеризуется развитием воспалительных инфильтратов (гумм и бугорков), склонных к распаду и нередко вызывающих значительные деструктивные, порой несовместимые с жизнью изменения в органах и тканях. В то же время высыпания третичного сифилиса не заразны для окружающих, так как в их отделяемом отсутствуют бледные трепонемы.

В третичный период сифилиса на слизистой оболочке рта могут появиться гуммы, гуммозная диффузная инфильтрация и бугорковые высыпания. При этом слизистая оболочка может быть единственным местом клинического проявления заболевания.

Гуммозный сифилис может локализоваться в любом месте слизистой оболочки рта. Чаще гуммы образуются на мягком и твердом небе и языке. Обычно гумма появляется в единственном числе. Вначале образуется безболезненный узел, который постепенно увеличивается, а затем вскрывается. Отторгается гуммозный стержень, после чего образуется гуммозная язва. Этот процесс длится 3—4 мес, иногда сопровождаясь незначительными субъективными ощущениями. Невскрытая гумма имеет плотную консистенцию, гладкую поверхность, слизистая оболочка над узлом умеренно воспалена, она имеет застойно-красную резко ограниченную окраску. После отделения стержня гуммозная язва имеет кратерообразную форму, плотные края, безболезненна, дно ее покрыто грануляциями. Язва постепенно заживает с образованием звездчатого втянутого рубца. При локализации на небе на месте гуммы нередко образуется перфорация, сохраняющаяся после разрешения процесса.

На твердом небе гумма обычно располагается по средней линии. Вследствие того, что слизистая оболочка тонка и интимно связана с надкостницей неба, начинающийся гуммозный процесс очень быстро переходит на периост и кость. Инфильтрат гуммы быстро распадается, и обнажается кость, которая некротизируется и секвестрируется, возникает сообщение между полостями рта и носа.

Лечение больного сифилисом может быть начато только после подтверждения клинического диагноза обнаружением бледных трепонем при первичном и вторичном

сифилисе или положительными серологическими реакциями. Под влиянием противосифилитического лечения высыпания быстро исчезают, причем уже через 8—10 час. после начала пенициллинотерапии бледные трепонемы не обнаруживаются на поверхности высыпаний. В связи с этим больные сифилисом через 10—12 час. после начала лечения пенициллином практически не заразны при бытовом контакте, а также при осмотре их врачами, в том числе стоматологами.

Стоматолог в своей практике может столкнуться с больным третичным сифилисом, у которого единственным проявлением заболевания могут оказаться гуммозные или бугорковые высыпания на слизистой оболочке рта. Лечение таких больных нельзя начинать с введения пенициллина, так как он вызовет реакцию обострения, которая будет стимулировать быстрое рассасывание сифилитических высыпаний, что может привести к катастрофе, даже к смерти больного, если такие высыпания локализируются в жизненно важных органах. Это связано с тем, что при таком лечении рассасывание инфильтрата произойдет за 2—3 дня, в течение которых не успеет образоваться замещающая их соединительная ткань. В связи с этим лечение больных третичным сифилисом всегда следует начинать с приема йода в течение 2—4 нед., затем вводят половину курсовой дозы препарата висмута и лишь потом пенициллин, после чего вторую половину курсовой дозы препарата висмута; второй и последующие курсы лечения начинают, как обычно, т.е. с пенициллина.

Стоматолог может встретиться с больным, который перенес третичный или поздний врожденный сифилис и у которого имеется перфорация неба, требующая пластической операции. Следует иметь в виду, что больные сифилисом после окончания лечения 5 лет находятся на диспансерном учете, в течение этого времени у них определяют излеченность сифилиса. В связи с этим пластическую операцию таким больным следует делать после снятия их с учета. Если же возникает необходимость в операции до этого срока, то оперативное вмешательство необходимо проводить под защитой пенициллина, в этом случае величину суммарной дозы препарата определяют коллегиально с венерологом, под наблюдением которого находится больной.

При лечении проявлений сифилиса в полости рта могут возникнуть осложнения, связанные с применением пенициллина и препаратов висмута. Пенициллин и его препараты могут вызвать острый аллергический медикаментозный стоматит, в связи с которым необходимо прекратить введение пенициллина, и кандидоз. Последнее осложнение у больных сифилисом не требует обязательной отмены пенициллина. Осложнениями от препаратов висмута являются висмутовая кайма, висмутовый гингивит и стоматит.

Гонорея.

Возбудителем гонореи является *Neisseria gonorrhoeae*. Это высоко контагиозное венерическое заболевание характеризуется поражением не только уrogenитального тракта. Встречаются экстрагенитальные поражения: артрит, поражение полости рта и глотки. Процент последних проявлений резко возрос в связи с распространением орального секса и гомосексуализма. На губах при гонорее могут быть язвенные поражения, десна становится отечной, воспаленной и напоминает картину язвенно-некротического гингивита. Язык, слизистая щек могут быть гиперемированны и с изъязвлением.

Вирусы являются наиболее частой причиной инфекционных заболеваний (корь, эпидемический паротит, краснуха, грипп, ветряная оспа, гепатит, СПИД и др.).

Другой вирус, для которого парентеральный путь передачи также может быть основным, - это вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус ВИЧ поражает лимфоциты (Т-хелперы) и макрофаги. При длительной репродукции вируса в организме популяции хелперов сокращается, в пораженных макрофагах снижается выработка интерлейкина-I. Кроме иммунной системы страдают другие органы и

системы: нервная система, органы пищеварения и дыхания, сердечно-сосудистая система и др. На фоне иммунодефицита развивается саркома Капоши и оппортунистические болезни (кандидомикоз, язвенно-некротический стоматит, цитомегаловирусная инфекция, герпес, пневмоцистоз).

Источниками вируса являются больные и вирусоносители. Возможен парентеральный путь заражения при использовании инфицированной вирусом крови при различных хирургических вмешательствах, переливании крови и пр., а также при половом контакте. Зарегистрированы случаи заражения плода во внутриутробном периоде.

Диагностика проводится главным образом серологическим методом, путем выявления антител с помощью иммуноферментного анализа.

Таким образом, пришедшие на прием пациенты с кандидомикозом, рецидивами герпеса, язвенно-некротическим поражением должны быть обязательно проверены на заражение ВИЧ. Особую опасность представляют больные группы риска - гомосексуалисты, проститутки, наркоманы, больные, которым часто переливали кровь (гемофилия).

Врач - стоматолог может заразиться вирусом от пациента воздушно -капельным путем и при пальцевом обследовании, также как и сам врач при своих манипуляциях может заразить больного (гепатит В, СПИД).

Дополнительно необходимо отметить, что примерно около 46 % пациентов на приеме могут быть носителями в полости рта *Streptococcus ruogeus*, *Staphul. aureus*. Они могут явиться причиной развития у врача различных респираторных заболеваний, а также вызвать воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая то, что многие из стафилококков являются антибиотико - резистентными, попадание этих микробов может затруднить процесс лечения.

Лепра

Лепра (проказа) вызывается лепрозными микобактериями Ганзена и представляет собой хроническую генерализованную инфекцию, развивающуюся преимущественно в дериватах эктодермы и в органах и тканях, богатых элементами активной мезенхимы. Лепра протекает хронически-прогрессивно с периодическими обострениями (лепрозные реакции), приводя при отсутствии рационального лечения к тяжелой инвалидности и через много лет к смерти.

Выделяют туберкулоидный и лепроматозный типы лепры. Возникновение того или иного типа заболевания связано с состоянием сопротивляемости организма человека к лепрозной инфекции, которое определяют с помощью лепроминовой кожной пробы. Поражения слизистой оболочки полости рта могут возникнуть лишь при лепроматозном типе, который развивается у лиц с резко пониженной реактивностью (лепроминовая проба отрицательная). У таких больных на коже, слизистой оболочке рта, внутренних органов, по ходу нервных стволов возникают лепроматозные инфильтраты с лепрозными клетками, не способными (в отличие от туберкулоидного типа) разрушать фагоцитированные ими палочки Ганзена, поэтому они беспрепятственно размножаются в этих клетках.

Лепрозный процесс на слизистой оболочке рта начинается с инфильтративной стадии, затем на этом фоне возникают бугорковые высыпания, которые через некоторое время изъязвляются. Процесс заканчивается рубцеванием. Очень часто на слизистой оболочке рта у одного и того же больного можно наблюдать элементы, характерные для всех четырех стадий развития лепрозного поражения слизистой оболочки, т. е. инфильтрацию, бугорки, язвы и рубцы. Клиническая картина лепрозного поражения слизистой оболочки рта отличается полиморфизмом, каждая из четырех стадий характеризуется описываемыми признаками.

Лепрозные изменения слизистой оболочки рта начинаются с образования поверхностного ограниченного инфильтрата, слегка возвышающегося над окружающей слизистой оболочкой и имеющего серовато-белый цвет, иногда с темно-синими участками. Затем на инфильтрированных участках возникают бугорки различной величины — от просяного зерна до вишневой косточки. Вначале бугорки плотноватые, затем размягчаются. Они расположены бессистемно и склонны к периферическому росту и слиянию. Бугорки большей частью матово-розового, иногда серовато-розового цвета. Их поверхность обычно блестящая. Чаще всего бугорки возникают на твердом и мягком небе, языке и губах. Через некоторое время бугорки обычно изъязвляются. Язвы на месте бугорков вначале небольшие, дно их бугристое, грязно-серовато-белого цвета, края неровные, припухшие, мягкой консистенции. Иногда язвенный процесс распространяется на костную ткань, вызывая ее расплавление. Чаще всего при этом разрушается альвеолярный край челюсти. В последующем язвы рубцуются, однако рубцы могут развиваться без предшествующего изъязвления бугорков, когда бугорок или инфильтрат слизистой оболочки рта фиброзируются. Образование рубцов еще не означает выздоровление, ибо одновременно могут возникать новые инфильтраты, бугорки и язвы. Лепрозные рубцы на слизистой оболочке полости рта могут быть круглые или в виде полос — лучистые. Рубцы гладкие, блестящие, белого цвета. Образовавшиеся рубцы в зависимости от их размеров и места расположения могут вызвать функциональные расстройства. Особенно часто деформируется мягкое небо и язычок, который может сместиться, а иногда даже исчезнуть.

Лепрозные поражения могут возникать и на губах. При этом очень часто образуется выраженный инфильтрат, сопровождающийся отеком, что влечет за собой образование лепрозного элевантиаза. Губа уплотняется, становится более толстой, валикообразной и малоподвижной. Кожа губ и красная кайма по цвету мало отличаются друг от друга. На этом фоне возникают хорошо контурированные бугорки.

Лепрозные изменения на внутренней поверхности губ начинаются с диффузной эритемы, затем возникает инфильтрация, имеющая вид синюшных пятен, покрытых утолщенным эпителием. На этом фоне иногда возникают бугорки, которые почти не выступают над слизистой оболочкой. Лепрозные бугорки на губах могут долгое время оставаться без изменения, но иногда они изъязвляются. Образующиеся неглубокие безболезненные язвы расположены на поверхности бугорков. Их отделяемое засыхает в светло-желтые корки.

Язвенное поражение слизистой оболочки губ всегда заканчивается рубцеванием с деформацией губ, в результате чего губа становится тоньше, ротовое отверстие может сузиться. Если же глубоко расположенные бугорки фиброзируются, то губа сморщивается, вследствие чего затрудняется речь, кожа губ в этих случаях бывает испещрена бороздами, а красная кайма губ становится морщинистой. Лепрозные изменения слизистой оболочки губ редко доходят до переходной складки.

Излюбленной локализацией лепрозных высыпаний являются десны на верхней челюсти со стороны языка в области фронтальных, реже коренных зубов. Лепрозные изменения на деснах начинаются с образования инфильтрата. Десны как бы набухают, делаются рыхлыми, красными, иногда цианотичными, слегка кровоточат; десневые сосочки припухают, рисунок десневого края сглаживается. Очень часто к этому присоединяется усиленное слюнотечение. Вскоре слизистая оболочка десны становится матовой, на ее поверхности образуются язвочки, которые затем рубцуются, что приводит к сморщиванию десневого края и завороту его внутрь. Десны ретрагируются, корни зубов обнажаются. Одновременно с рубцеванием на других участках десен может появиться свежий инфильтрат. Характерна безболезненность процесса.

Лепрозные изменения на слизистой оболочке твердого неба происходят следующим образом: в тех случаях, когда поражение начинается на передней трети, вначале отмечается инфильтративная стадия, инфильтрат образуется позади шеек

центральных резцов и доходит до клыков. Участок инфильтрированной слизистой оболочки по направлению назад суживается и чаще заканчивается у начала средней трети твердого неба, в результате чего образуется треугольник, основанием обращенный вперед, а вершиной назад. Значительно реже инфильтрат по направлению назад суживается до полоски шириной 2 см и по средней линии распространяется до мягкого неба. Инфильтрат на боковых поверхностях твердого неба наблюдается крайне редко. Инфильтрированный участок большей частью имеет серовато-красный цвет и совершенно безболезнен. Затем на инфильтрированных участках возникают серовато-белые бугорки величиной с просыное зерно, которые впоследствии поверхностно изъязвляются.

На мягком небе поражение начинается с гиперемии, переходящей в инфильтрат темной окраски. Иногда мягкое небо вначале имеет бледно-желтый цвет. Язычок обычно инфильтрируется, размеры его увеличиваются. На инфильтрированных участках мягкого неба и язычка появляются беловато-серые, фокусно расположенные бугорки различной величины — от просыного зерна до горошины. Затем бугорки распадаются и образуются язвочки. Иногда отдельные язвочки сливаются, образуя большей или меньшей величины сплошные язвенные поверхности. Края язв слегка приподняты и подрыты, дно бугристое с сероватым налетом. Цвет их грязно-серовато-белый. Вследствие язвенного поражения обычно разрушается часть или весь язычок. Язвенный процесс на твердом и мягком небе заканчивается рубцеванием. Образующиеся рубцы имеют разнообразную форму: иногда они круглые, но чаще лучистые или звездчатые. Рубцы обычно блестящие, поверхностные, беловатого цвета.

Рубцовое стяжение на твердом небе вблизи шеек передних зубов ведет к сморщиванию десны и ретракции ее с обнажением корней зубов. Края ретрагированной десны заворачиваются внутрь в сторону корней, плотно обхватывая их. Рубцы на мягком небе иногда образуют дугу, выпуклой частью обращенную вперед. Фиброзирование в области мягкого неба часто вызывает стойкие деформации, из-за чего мягкое небо может подтягиваться кверху, суживая вход в носоглотку. Иногда мягкое небо совершенно разрушается.

Излюбленной локализацией лепрозных элементов на языке является средняя линия его спинки, начиная от корня и до кончика. Язык может инфильтрироваться, увеличиваться, утолщаться, в результате чего его подвижность затрудняется и речь становится малопонятной. На инфильтрированной поверхности спинки языка появляются плотные бугорки различной величины, но не больше боба, с плоской поверхностью и широким основанием. Поверхность бугорков блестящая, покрыта беловатым налетом благодаря слущиванию эпителия («серебряный» язык). Число бугорков может увеличиваться, и они могут сливаться (лепрозный глоссит), в результате чего на спинке языка образуются валикообразные возвышения с глубокими бороздами между ними.

Бугорки на языке склонны к распаду и изъязвлению. Образовавшиеся язвы располагаются поверхностно и имеют зубчатые, подрытые, инфильтрированные края. Дно язв неглубокое, шероховатое, покрыто сероватым налетом. В некоторых случаях эти язвы сливаются, образуя сплошную язвенную поверхность, покрытую тонким серым налетом. Возникающие на месте язв различной формы поверхностные рубцы обычно имеют серовато-белый цвет и блестящую поверхность.

Для диагностики лепры применяют бактериоскопические исследования соскоба со слизистой оболочки носовой перегородки, а также со дна и краев лепрозных язв, в которых легко обнаруживают палочки Ганзена.

Лепрозное поражение слизистой оболочки полости рта может напоминать третичный сифилис и туберкулезную волчанку. От проявления туберкулезной волчанки и колликувативного туберкулеза лепрозные высыпания отличаются большей плотностью, наличием выраженных расстройств чувствительности и лепрозных микобактерий в отделяемом изъязвившихся

элементов.

Наиболее эффективными противолепрозными средствами являются препараты сульфонового ряда, такие, как диамино-дифинил-сульфон (ДС), авлосульфон, дапсон, сульфетрон (солюссульфон, новотроп), которые принимают в течение длительного времени. Такое же действие, как сульфоны, оказывает менее токсичный препарат тиокарбонилд (производное тиомочевины). Не потеряли значение чаулмугровое масло и его производные, в частности этиловые эфиры и мугроль. В целях успешного лечения больных лепрой всегда следует применять комбинированную терапию всеми известными антилепрозными средствами в сочетании с общеукрепляющими препаратами и физиотерапией.

Прогноз при лепре в последние десятилетия в связи с введением в практику лечения этого заболевания новых, достаточно эффективных препаратов стал лучше. Основным мероприятием общественной профилактики лепры является раннее выявление и быстрая изоляция больных лепрой в специальные учреждения — лепрозории, где больные лечатся, живут и работают. При обнаружении больного или подозрительного на заболевание лепрой врач немедленно должен сообщить об этом органам здравоохранения. При подтверждении диагноза лепры больной с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных инструкцией Народного Комиссариата путей сообщения — Народного Комиссариата здравоохранения от 19/IV 1944 г., должен быть доставлен в лепрозорий.

Герпесы

Простой пузырьковый лишай (син. простой герпес) — это одно из самых частых заболеваний слизистой полости рта человека. Губы и слизистая оболочка рта являются излюбленной локализацией герпеса. Вирус герпеса начинает свое развитие в клеточном ядре. Попав в организм и вызвав проявления первичной герпетической инфекции, он остается в организме человека, по-видимому, в течение всей жизни в латентном состоянии или вызывает рецидивы болезни.

Герпес может возникнуть у человека один раз в жизни, а может иметь рецидивирующее течение. Рецидивы развиваются у разных людей в различные сроки и характеризуются неодинаковой интенсивностью процесса. Возникновению рецидивов способствуют многие факторы, снижающие защитные силы организма: охлаждение, перегревание, пневмонии, ангины, заболевания желудочно-кишечного тракта, менструации и пр. Чаше герпетическая инфекция проявляется в виде локального поражения, но иногда она приобретает генерализованный характер, чаще у новорожденных.

Простой пузырьковый лишай может возникнуть у людей любого возраста. Проявления герпеса могут отмечаться на коже и слизистых оболочках. Заболевание начинается с появления одного-двух, реже большего количества ограниченных очагов гиперемии, на фоне которой быстро образуются мелкие, величиной с просыное зерно или чуть больше, пузырьки. Количество пузырьков может варьировать от 2—3 до 10—15 и более. Пузырьки располагаются группами, содержат прозрачную жидкость, затем их содержимое мутнеет. Иногда в результате большого скопления жидкости мелкие пузырьки сливаются в один или два пузыря диаметром до 1,5 см. На губах через 2—3 дня жидкость высыхает в желтовато-серую корку.

Нередко пузырьки вскрываются с образованием эрозий ярко-красного цвета с полициклическими очертаниями. На слизистой оболочке полости рта отмечается более выраженная воспалительная реакция, пузырьки вскрываются в первые часы после появления. Эрозии на их месте имеют неправильные фестончатые очертания и покрываются нежной фибринозной пленкой. Процесс на слизистой оболочке полости рта может быть ограниченным или распространенным — герпетический стоматит. Через 8—12 дней, а в некоторых случаях медленнее, происходит эпителизация эрозий. Высыпания пузырьков сопровождаются покалыванием. В отдельных случаях высыпания сопровождаются сильным отеком окружающей ткани. Общее состояние, как правило, не страдает, однако некоторые больные отмечают недомогание, мышечные боли, озноб. Температура тела может быть субфебрильной или повышаться до 38—39°C.

Разновидностью простого герпеса является рецидивирующий герпес. Рецидивы

возникают с различной частотой, в разное время и вне зависимости от сезона. У некоторых больных рецидивы отмечаются 3—4 раза в месяц, заболевание фактически принимает перманентное течение. Рецидивирующий герпес по клиническим проявлениям не отличается от простого герпеса.

Острый герпетический стоматит. До последнего времени в отечественной литературе по стоматологии и педиатрии описывали два самостоятельных заболевания: острый афтозный и острый герпетический стоматиты. Клинико-лабораторное обследование большой группы больных с использованием арсенала современных вирусологических, серологических, цитологических и иммунофлюоресцентных методов исследования убедительно показало клиническое и этиологическое единство этих заболеваний.

Полученные данные позволили рекомендовать единый термин и называть заболевание «острый герпетический стоматит», положив в основу вирусную этиологию заболевания. Этот стоматит занимает одно из ведущих мест в детской инфекционной патологии, встречаясь чаще скарлатины, кори, эпидемического паротита и лишь немного уступая ветряной оспе.

Острый герпетический стоматит среди неиммунных лиц имеет сравнительно высокую контагиозность. Так, в детских дошкольных учреждениях и в больничных палатах при эпидемической вспышке может заболеть до $\frac{3}{4}$ детей.

Передача инфекции происходит, очевидно, контактным и воздушно-капельным путем.

Для развития заболевания имеет значение нарушение целостности слизистых оболочек и кожных покровов. Четкой сезонности возникновения заболевания выявить не удастся. Наибольшая распространенность заболевания среди детей в возрасте от 6 мес до 3 лет объясняется тем, что у них исчезают антитела, полученные от матери интерплацентарно, а также недостаточной зрелостью системы специфического иммунитета.

Острый герпетический стоматит, как и другие инфекционные заболевания, имеет пять периодов развития: инкубационный, продромальный (катаральный), периоды развития болезни (высыпаний), угасания и клинического выздоровления (реконвалесценции). В зависимости от степени выраженности общего токсикоза и местных проявлений в полости рта заболевание может протекать в легкой, средней и тяжелой форме.

Из общих симптомов характерны гиперергическая реакция с подъемом температуры тела до 4 ГС и выше при тяжелой форме заболевания, недомогание, слабость, головная боль, кожная и мышечная гиперестезия, отсутствие аппетита, бледность кожных покровов, тошнота и рвота центрального происхождения, так как вирус обычного герпеса является энцефалотропным. Уже в инкубационном и особенно в продромальном периоде отчетливо выявляется увеличение подчелюстных, а в тяжелых случаях и шейных лимфатических узлов.

На пике подъема температуры возникает гиперемия и отечность слизистой оболочки полости рта; на воспаленной слизистой оболочке губ, щек, языка возникают от 2—3 до нескольких десятков близко расположенных друг к другу групп пузырьков, которые быстро вскрываются. На их месте возникают эрозии с некрозом в центре размером 0,5—1 см, весьма напоминающие афтозные элементы. На губах высыпания быстро покрываются корками. При этом поражение может локализоваться не только в полости рта, но и на коже лица, особенно часто это наблюдается при тяжелой форме заболевания. В связи с тем, что высыпания продолжают возникать в течение нескольких дней, при осмотрах можно видеть элементы поражения, находящиеся на разных стадиях развития. Очередное появление высыпаний сопровождается ухудшением общего состояния ребенка, беспокойством или адинамией и подъемом температуры тела на 1—2°C по сравнению с предыдущими сутками. Обязательным симптомом острого герпетического стоматита является гиперсаливация, слюна становится вязкой и тягучей, отмечается запах изо рта.

Уже в катаральном периоде заболевания часто возникает выраженный гингивит, который в дальнейшем, особенно при тяжелой форме, приобретает эрозивно-язвенный характер. Отмечается выраженная кровоточивость десен и слизистой оболочки полости рта.

В крови детей с тяжелой формой заболевания обнаруживают лейкопению, палочкоядерный сдвиг влево, эозинофилию, единичные плазматические клетки, юные формы нейтрофилов. Иногда в моче появляется белок. В слюне сначала определяется сдвиг pH в кислую сторону, затем — в щелочную, при этом в слюне обычно отсутствует интерферон, а содержание лизоцима заметно снижено. Гуморальные факторы естественной защиты организма, в том числе фагоцитоз, в период разгара заболевания также резко снижены.

Диагноз острого герпетического стоматита устанавливают на основании клинической картины и эпидемиологии заболевания. Для уточнения диагноза рекомендуется производить цитологическое исследование материала с герпетических эрозий, который окрашивают по Романовскому—Гимзе, чтобы обнаружить так называемые гигантские многоядерные клетки, которые характерны для герпеса.

Весьма перспективным для этиологической диагностики заболевания является метод иммунофлюоресценции, который позволяет получить результат в течение 2,5—3 ч с момента забора материала.

Лечение простого пузырькового лишая у взрослых заключается в смазывании очага поражения 2—3 раза в день спиртовыми растворами анилиновых красителей или мазями, содержащими противовирусные вещества (1—3% оксолиновая, 3% октатионовая, 2—5% теброфеновая и др.). Хороший эффект дает лейкоцитарный интерферон, раствор которого наносят на область поражения 6—7 раз в день. При лечении рецидивирующего герпеса необходимо применять средства, повышающие защитные силы организма (гамма-глобулин, пирогенал и др.). Положительное действие оказывает герпетическая поливакцина, которую вводят внутримышечно по 0,1—0,2 мл с интервалом в 2—3 дня, на курс 10 инъекций. Неплохой эффект дает дезоксирибонуклеаза, которую вводят парентерально по 10—50 мг 2 раза в неделю, на курс 6—10 инъекций.

Тактика врача при лечении детей, больных острым герпетическим стоматитом, должна определяться степенью тяжести заболевания и периодом ее развития. При средней тяжести и тяжелом течении болезни общее лечение желательнее проводить вместе с педиатром. Учитывая, что эти формы заболевания развиваются на фоне существенного снижения защитных сил организма, целесообразно применять средства, стимулирующие иммунитет (ли-зоцим, продигозан, гамма-глобулин парентерально; метилурацил, пентоксил, нуклеинат натрия), одновременно следует проводить десенсибилизирующую терапию (димедрол, супрастин, пипольфен, глюконат кальция и др.). Местное лечение при остром герпетическом стоматите заключается в проведении противовирусной терапии. Назначают 0,25—1% оксолиновую, 1—2% флореналевую, 1—2% теброфеновую, 4% гелиомициновую мазь, 1% раствор дезоксирибонуклеазы, линимент хелепина, смесь интерферона с продигозаном и другими интерферонгенами. Эти препараты применяют 3—4 раза в день. Противовирусные средства необходимо наносить на всю слизистую оболочку, а не только на пораженные участки, так как они дают как лечебный, так и профилактический эффект. Раз в день полость рта рекомендуется обработать 0,1—0,5% раствором протеолитических ферментов (трипсин, хемотрипсин, панкреатин и др.), которые способствуют растворению некротизированных тканей.

В период угасания болезни основное значение придают применению слабых антисептиков и кератопластических средств. Хорошие результаты дают аппликации масляных растворов витамина А, масла шиповника, каротина, мази и желе солкосерил, мази с метилурацилом, ливиян, левовинизоль. В качестве противомикробных средств можно применять растворы фурацилина, этакридина лактата, эктерицида, этония и т.д. Больной должен принимать жидкую или полужидкую пищу, не раздражающую воспаленную слизистую оболочку, получать достаточное количество жидкости. Перед приемом пищи необходимо обезболить слизистую оболочку рта 5% анестезиновой эмульсией.

В заключение следует отметить, что острый герпетический стоматит, протекающий в любой форме, является контагиозным заболеванием, во всех

случаях требуется внимание со стороны педиатра и стоматолога для того чтобы обеспечить комплексное лечение, исключить контакт больного со здоровыми и провести профилактические мероприятия в детских коллективах. В детских учреждениях, особенно в ясельных группах, не следует допускать к работе с детьми сотрудников в период проявления герпеса, независимо от его локализации. При выявлении в детском учреждении ребенка, больного острым герпетическим стоматитом, ему не разрешают посещать детское дошкольное учреждение, даже если заболевание протекает в очень легкой форме.

Опоясывающий лишай. Это заболевание, вызываемое вирусом, идентичным по своим антигенным свойствам вирусу ветряной оспы. Этот вирус отличается нейродермотропностью с преобладающим действием на центральную и периферическую нервную систему. Заболевание часто развивается на фоне резкого ослабления защитных свойств организма, нередко как осложнение пневмонии, болезней крови и других истощающих заболеваний.

Болезнь начинается с болей по ходу пораженных периферических нервов всегда с одной стороны. На лице и слизистой оболочке рта появляются парестезия и боли по ходу одной или двух ветвей тройничного или лицевого нерва. Затем появляется эритема в виде пятен, иногда сливающихся в полосы, где образуются группы мелких пузырьков, наполненных серозным или геморрагическим содержимым. Высыпания, резко ограниченные, односторонние, выявляются по ходу пораженных нервов. На слизистой оболочке полости рта эти пузырьки быстро вскрываются, образуя эрозии с фестончатыми очертаниями.

Вся толща щеки в зоне поражения может быть отечна и инфильтрирована, подчелюстные лимфатические узлы увеличены, болезненны. При поражении двигательных и чувствительных волокон лицевого нерва иногда развивается синдром Рамзая Хунта, включающий опоясывающий лишай, паралич лицевого нерва и боли в ухе. Заболевание длится 3—6 нед. и спонтанно разрешается. Болезнь сопровождается болями невралгического характера, которые могут сохраняться и после ликвидации высыпаний.

В диагностическом отношении важное значение имеет односторонность поражения, болевой синдром, локализация высыпаний строго в зоне иннервации пораженного нерва, отсутствие рецидивов. Последнее отличает опоясывающий лишай от *Herpes simplex recidivans*.

Лечение заключается в назначении антибиотиков широкого спектра действия, салицилатов, витаминов В и В₁₂, дезоксирибонуклеазы, интерферона, анальгетиков и др. Слизистую оболочку рта обрабатывают противовирусными мазями (0,25—0,5% оксолиновая, 0,5—2% теброфеновая, 1—2% флореналева) или раствором интерферона (32 ЕД в 1 мл). В период разрешения высыпаний показаны кератопластические средства: масло шиповника, облепихи, каротолин, мази, содержащие витамин А.

Герпетическая ангина. Заболевание вызывается энтеровирусом Коксаки группы А, начинается остро: с подъема температуры тела, миалгических болей, общего недомогания. В заднем отделе рта: на мягком небе, передних дужках, миндалинах и задней стенке глотки — появляются болезненные сгруппированные и одиночные везикулы, заполненные серозным или геморрагическим содержимым. В последующем часть везикул исчезает, другие вскрываются, образуя эрозии. Слияние мелких эрозий приводит к образованию эрозированных участков разной величины с фестончатыми очертаниями. Некоторые из эрозий могут напоминать афты. Эрозии малоболезненны, эпителизируются медленно, иногда в течение 2—3 нед. Описаны случаи заболевания членов одной семьи и даже эпидемические вспышки.

Лечение состоит в симптоматической общей терапии и местном применении в первые 2—3 дня противовирусных, а в дальнейшем кератопластических средств.

Частые полоскания и смазывания замедляют процесс эпителизации эрозий.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 11.

Тема: Микрофлора при протезировании и имплантации зубов. Изучение адгезии и колонизации бактерий полости рта на стоматологические материалы. Диагностика периимплантитов и их профилактика.

Учебная цель:

изучить значение резидентной микрофлоры полости рта в развитии осложнений дентальной имплантации и принципы профилактики постимплантационных осложнений воспалительного характера.

План занятия:

6. Представителей каких биотопов полости рта являются наиболее частыми возбудителями постимплантационных осложнений?
7. Пути инфицирования зоны имплантации, связанные с контаминацией костного ложа имплантата и линий шва.
8. Патогенез и клинические формы постимплантационных осложнений воспалительного характера.
9. Забор материала для исследования при периимплантитах и остеомиелитах.
10. Профилактика постимплантационных осложнений воспалительного характера.

Самостоятельная работа студентов:

1. Учесть результаты посевов микрофлоры слизистой оболочки полости рта до и после использования самоклеящихся плёнок ДИПЛЕН-ДЕНТА и занести в протокол.
2. Микроскопия мазков из чистых культур анаэробных бактерий, выделенных при периимплантитах:
 - а) превотеллы
 - б) пептострептококки
 - в) фузобактерии
3. Оформление протокола исследования.

Таблица. Забор исследуемого материала из протезного ложа.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

ОСНАЩЕНИЕ

3. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.
4. Таблицы.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
2. Самостоятельная работа	----- 70 мин.
3. Проверка протоколов	----- 10 мин.
4. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 15мин

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12.

МОДУЛЬ №4.

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

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

**СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК
ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ-
МИКРОБИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА
ДЛЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ**

Весенний семестр

Владикавказ

Автор: доцент, к.м.н. Черткоева М.Г.

Основное назначение разработок - методическая помощь преподавателям к каждому практическому занятию в III 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 гигиены и физического воспитания ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

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

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №1.

Тема: Микроскопический метод исследования. Оборудование и правила работы в бактериологической лаборатории. Световая микроскопия. Иммерсионная система микроскопа. Морфология микробов. Простые и сложные способы окраски препаратов. Особенности структуры эу- и прокариотических клеток.

Учебная цель:

6. Ознакомление с правилами работы в микробиологической лаборатории.
7. Изучить таксономию и классификацию микроорганизмов: морфологические особенности микроорганизмов и простой окраски.
8. Изучить морфологию отдельных представителей бактерий.
9. Освоить технику микроскопирования.
10. Освоить простой метод окраски микроорганизмов.

План занятия:

9. Знакомство с правилами работы и основами техники безопасности в микробиологической лаборатории.
10. Устройство и оборудование микробиологической лаборатории, режим работы и назначение.
11. Классификация бактерий.
12. Морфология бактерий, методы изучения (световая, темнопольная, фазовоконтрастная, электронная микроскопия).
13. Этапы приготовления мазка.
14. Простой метод окраски бактерий.
15. Приготовление мазков из культуры стафилококка и кишечной палочки, окраска простым методом.
16. 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 стафилококка (*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 -8шт.
- 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 МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.

- 1 . Работа в микробиологической лаборатории проводится с заразным материалом, что требует особой дисциплинированности и тщательности в работе.
- 2.Студент должен находиться в лаборатории в халате и шапочке. 3.Материал для работы принимается дежурным по группе у лаборанта кафедры и раздается студентам только с разрешения преподавателя. 4.При выполнении практических занятий, студенты обязаны выполнять указания преподавателя.
- 5.Все предметы, которые были в работе, должны быть обеззаражены. 6.Если студент разобьет пробирку с микробами, он обязан сообщить об этом преподавателю и обезвредить рабочее место.
- 7.каждый студент получает микроскоп, который закрепляется за ним.
- 8.Во время выполнения практических занятий на столе не должно быть никаких посторонних предметов.
- 9.Студенты обязаны привести в порядок свое рабочее место; сдать дежурному материалы и микроскоп; подписать альбом с зарисовками. 10. 10. Вымыть руки после работы.

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, трехкратно 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, получают 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- *Streptococcus*.

10. При делении в двух взаимно перпендикулярных направлениях возникают сочетания по четыре кокка-*Tetrads*.

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 сгибаемыми 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 1 и 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 ЗАДАНИЕ № 2.

Тема: Бактериологический метод исследования. Физиология бактерий. Питательные среды. Их классификация, способы приготовления, стерилизация. Техника посевов материала на питательные среды.

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.
4. Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
5. Изучить методы контроля эффективности стерилизации.

План занятия:

15. Питание бактерий: типы, механизмы поступления питательных веществ в микробную клетку.
16. Принципы культивирования микроорганизмов.
17. Бактериологический метод диагностики инфекционных заболеваний.
18. Питательные среды: требования, предъявляемые к питательным средам; классификация, состав, приготовление.
19. Демонстрация питательных сред.
20. Посев исследуемого материала (взвеси микроорганизмов) на МПА методом Дригальского (1 этап).
21. Методы стерилизации: физические, химические, биологические, механические.
22. Устройство и применение печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
23. Стерилизация различных лекарственных средств в зависимости от их природы, формы, лабильности к физическим факторам.
24. Контроль качества стерилизации.
25. Понятие об асептике, антисептике и дезинфекции.
26. Антисептики и дезинфектанты.
27. Принципы контролирования качества дезинфекции.
28. Демонстрация антисептических и дезинфицирующих средств.

Самостоятельная работа студентов:

4. Посев исследуемого материала по методу Дригальского.
5. Ознакомление с приготовлением питательных сред.
6. Провести и учесть результаты опыта по определению действия высокой температуры (80°C) на спорообразующие (антракоид) и аспорогенные (кишечная палочка и стафилококк) микроорганизмы.
 - Заполнить протокол по форме:

Учет роста культуры	Стафилококк	Кишечная палочка	Антракоид
до прогрева			
после прогрева			

Вегетативные формы патогенных микроорганизмов погибают при 50-60⁰С в течении 30 минут, а при температуре 70⁰ 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.	Фильтрация			
8.	Физические факторы (УФЛ, гамма-лучи, ультразвук)			
9.	Газовая стерилизация			
10.	Пастеризация			

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 -8шт.

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 МАТЕРИАЛ 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. Среда должна создавать оптимальные условия для жизнедеятельности микробов.

РЕКВИЗИТЫ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ 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	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
	Дифференциально-диагностические Универсальные Среды обогащения Консервирующие	Эндо, Плоскирева, Левина, Ресселя, Гисса МПБ, МПА, кровяной агар Среда Мюллера

		<i>Среды с глицерином</i>
По консистенции	Жидкие Полужидкие Плотные	МПБ, пептонная вода, сахарный МПБ МПЖеле, желатиновая МПА, кровяной агар

СТЕРИЛИЗАЦИЯ

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

Стерилизацию производят различными способами:

10. Физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, повышенного давления, пара, гамма-лучей, ультразвука).

11. Химическими (использование различных дезин-фектантов, антисептиков).

12. Биологическим (применение антибиотиков).

13. Механическими (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использования 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, тиндализацию, 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, имплантаты, боры, корневые иглы, экскаваторы, зонды, гладилки.	Стерилизация - вирулицидные, спороцидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия. Длительная экспозиция: гамма-лучи, плазма, длительная газовая и химическая стерилизация, автоклавирование (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, туберкулоцидные, 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	----- 10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3.

Тема: Способы выделения и идентификации чистых культур аэробных бактерий. Изучение ферментативной активности, факторов вирулентности и чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Особенности транспортировки материала и выделения чистых культур анаэробных бактерий. Культуральные и патогенные свойства грибов.

Тестовый контроль.

Учебная цель:

14. Освоить методы выделения чистых культур аэробов.
15. Изучить типы дыхания бактерий, способы создания условий анаэробноз. Освоить методы выделения чистых культур анаэробов.
16. Изучить грибы - возбудители микозов и микологический метод исследования

План занятия:

12. Типы дыхания бактерий.
13. Способы создания условий анаэробноз.
14. Методы выделения чистой культуры аэробов и анаэробов.
15. Посев почвенной болтушки на среду Китта-Тароцци.
16. Питательные среды для анаэробов, методы культивирования и выделение чистой культуры анаэробов.
17. Изучение культуральных свойств бактерий.
18. Изучение колоний, выросших на чашках, засеянных методом Дригальского.
19. Посев микроорганизмов из изученной колонии на скошенный агар для получения чистой культуры (2 этап).
20. Демонстрация пигментообразования бактерий.
21. Демонстрация характера роста бактерий на плотных и жидких питательных средах.
22. Сдача модуля.

Самостоятельная работа студентов

17. Завершение 1-го этапа бактериологического метода. Изучение культуральных свойств бактерий.
18. Из выросших колоний на МПА приготовить мазок, окрасить по Граму.
19. Посев из исследуемых изолированных колоний на скошенный агар для накопления чистой культуры.
20. Демонстрация техники анаэробного культивирования и сред для анаэробов: высокий столбик агара, среда Китта-Тароцци, тиогликолевая, Стюарта. Демонстрация микроанаэрозоата. Способы: Фортнера, Вейнберга.
21. Приготовление мазков из дрожжевых грибов, окрасить их простым методом (метиленовой синью) и микроскопировать.
22. Приготовление и микроскопирование нативных препаратов из культур плесневых грибов.
23. Просмотр и зарисовка демонстрационных препаратов:
 - а) актиномицетов, окрашенных по Граму;
 - б) нативных препаратов из культур плесневых грибов (мукоз, аспергилл, пеницилл);
 - в) дрожжевых грибов, окрашенных метиленовой синей;

24.Посев материала с пальцев рук на чашку с МПА (метод отпечатков).

25.Посев отделяемого из носа и зева на МПА.

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 -8шт.
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 микроанаэрозоата.
- 8.Демонстрация пигментобразования бактерий.
- 9.Демонстрация культуральных свойств на жидких и плотных питательных средах.
8. Таблицы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Дыхание бактерий. Классификация бактерий по типу дыхания.

Сущность дыхания у микроорганизмов — 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 aeruginosa*.

5. Облигатные анаэробы — микроорганизмы, которые растут и размножаются только без доступа кислорода. Например: *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*.

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

7. Микроаэрофилы бактерии — микроорганизмы, которые лучше растут и размножаются при повышенном содержании CO₂ и низком содержании кислорода. Например: *Helicobacter pylori*, *Campylobacter coli*.

Методы культивирования анаэробов

Способы создания анаэробных условийа) механический — удаление (откачивание) воздуха из анаэрозоата с помощью вакуумного отсоса. Затем анаэрозоат 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 Цейслера) 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). Среда перед посевом регенерируют (кипятят на водяной бане в течение 15 минут) 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 (метод разведений)

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°C 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 Цейслера секторами с последующим культивированием в анаэроостате.

Грибы (*Fungi*, *Mycetes*) — разнородная группа эукариотических микроорганизмов. Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цитоплазматическую 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 бесполом способами, а также вегетативным путем (почкование или фрагментация гиф). Грибы, размножающиеся половым и бесполом путем, относятся к совершенным. Несоввершенными 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	----- 10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4.

Тема: Бактериофаг. Генетика бактерий. Молекулярно-генетический метод диагностики. Строение и репродукция бактериофагов. Их медицинское значение. Наследственность и изменчивость у бактерий. Полимеразная цепная реакция и её применение.

Учебная цель:

1. Изучить строение и морфологию бактериофагов.
2. Изучить наследственность и изменчивость у бактерий.

План занятия:

1. Морфология и строение бактериофагов, их практическое применение в медицине.
2. Виды наследственности бактерий.

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 а. питательных средах.
3. Демонстрация сред для культивирования культур тканей: среды Хенкса, 199, Игла.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

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 специфических 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, лимонovidные 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»-Vіга. 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.

ХРОНОМЕТРАЖ

6. Определение исходного уровня знаний	----- 30 мин.
7. Самостоятельная работа	----- 30 мин.
8. Проверка протоколов	----- 10 мин.
9. Уборка рабочего места	----- 10 мин.
10. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом	----- 10мин.
11.	

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5.

Тема: Современные методы диагностики в вирусологии. Понятие о строении вирусов, вирионов и прионов. Методы диагностики.

Учебная цель:

1. Изучить морфологию и ультраструктуру вирусов.
2. Изучить методы диагностики вирусов.

План занятия:

1. Особенности биологии вирусов.
2. Принципы классификации вирусов.
3. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.

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
а. 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 а. действие вируса, реакция гемадсорбции.
7. Демонстрация реакции гемагглютинации.
8. Демонстрация цветной пробы.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ 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 м до 300-400 м.
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:

16. Палочковидная
17. Сферическая (шаровидная)
18. Кубоидальная
19. Головчатая (сперматозоидообразная)
20. 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:

- 10. Вирусологическая диагностика** - основана на выделении из исследуемого материала вируса и его последующей идентификации.
- 11. Серологическая диагностика** - определение специфических иммунологических изменений в организме под действием вирусов (чаще всего с помощью диагностикумов выявляют в сыворотке крови противовирусные антитела).
- 12. Молекулярно-биологическая диагностика** - обнаружение в клиническом материале фрагментов нуклеиновых кислот вирусов-возбудителей с помощью зондов (гибридизация НК) или ПЦР.

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

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 вирусосодержащего 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:

7. По типу гроздьобразования (аденовирусы);

8. 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 гемагглютинины - 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	----- 10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6.

Тема: Симбиоз и антибиоз. Резидентная и патогенная микрофлора. Факторы вирулентности микробов. Синергизм и антагонизм у микробов. Антибиотики, механизм действия и методы определения чувствительности к антибиотикам.

Тестовый контроль.

Учебная цель:

4. Изучить этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
5. Изучить механизм действия антибиотиков на микробную клетку.
6. Изучить методику определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

План занятия:

12. Этапы и факторы симбиоза человека с микробами.
13. Условия формирования ассоциации резидентов.

14. Отличия патогенов от резидентов.
15. Антибиотики, определение, классификация по химической структуре, спектру, типам и механизму действия.
16. Химиотерапевтические препараты, механизм их действия на микробную клетку.
17. Механизмы лекарственной устойчивости бактерий.
18. Побочное действие антибиотиков и синтетических противомикробных лекарственных средств.
19. Методы и единицы измерения антимикробной активности.
20. Противовирусные химиотерапевтические препараты.
21. Демонстрация антибиотиков с различным механизмом и спектром действия.
22. 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. Демонстрация: индикаторные бумажные диски с антибиотиками.
3. Демонстрация: метод серийных разведений.
4. Демонстрация: антибиотики различного спектра действия.
5. 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 транзитную микрофлору. *Постоянная* микрофлора представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в организме. *Транзитная* 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 экзополисахаридно-муциновый матрикс, образуя биологическую пленку, устойчивую к различным воздействиям.

Протокол исследования

№	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

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: бактериостатический, бактерицидный, литический.

Кроме бета-лактамных антибиотиков, синтез клеточной стенки поражают такие антибиотики, как бацитрацин, фосфомицин, циклосерин, ванкомицин, ристомин, 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 70S. Хотя бактериальные рибосомы 70S имеют такую же в принципе структуру, как рибосомы 80S эукариотных клеток, их белки и белковые факторы, участвующие в работе белоксинтезирующей системы, отличаются от таковых рибосом 80S. 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 70S. 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 высеван 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	----- 10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7.

Тема: Серологический метод диагностики. Механизмы неспецифической резистентности человека. Фагоцитоз, система комплемента, лизоцим и т.д. Антигены и антитела. Серологические реакции: агглютинация, преципитация, лизис, гемолиз и связывания комплемента. Иммунофлюоресцентный, иммуноферментный и радиоиммунный анализ в диагностике инфекционных болезней.

Учебная цель:

- Изучить физиологические механизмы иммунитета.
- Изучить серологические методы лабораторной диагностики.
- Изучить комплементзависимые серологические реакции,
- Изучить реакции иммунитета с мечеными компонентами.

План занятия

- Антигены, их природа. Гаптены. Антигены бактерий.
- Антитела, классификация. Структура иммуноглобулинов, основные классы.
- Гуморальный и клеточный иммунный ответ
- Серологические реакции, их сущность и механизм, практическое применение. Серодиагностика. Сероидентификация.

22. Реакция агглютинации, методы постановки, фазы реакций, практическое применение.
23. Реакция преципитации, способы постановки, практическое применение.
24. Диагностикумы, классификация, применение.
25. Диагностические сыворотки, получение и виды диагностических сывороток – агглютинирующие (адсорбированные и неадсорбированные, моно- и поливалентные), преципитирующие.
26. Демонстрация развернутой реакции агглютинации, реакции гемолиза.
27. Постановка реакции кольцепреципитации.
28. Демонстрация диагностикумов и диагностических сывороток.
29. Реакции иммунного лизиса, компоненты.
30. Реакция гемолиза.
31. Реакция связывания комплемента (РСК). Постановка и учет реакции связывания комплемента.
32. Реакция иммунофлюоресценции, прямая и непрямая.
33. Иммуноферментный анализ, компоненты, применение.
34. Радиоиммунный анализ, компоненты, применение.

Самостоятельная работа студентов:

5. Постановка и учет ориентировочной реакции агглютинации на предметном стекле с целью идентификации выделенной чистой культуры грамотрицательных палочек.
6. Постановка и учет развернутой реакции агглютинации с целью серодиагностики брюшного тифа.
7. Постановка и учет реакции термокольцепреципитации с целью сероиндикации сибирской язвы.
8. Постановка и учет реакции связывания комплемента с целью серодиагностики сифилиса

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 бакпрепаратов: 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 им-мунокомпетентными 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 сенсibilизированных 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 иммунокомпетентными 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 — плазм-клетками. В соответствии с Международной классификации у-глобулины, несущие функции антител, получили название иммуноглобулинов и обозначаются символом Ig. 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: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Иммуноглобулины M, G, A имеют подклассы. Например, IgG имеет четыре подкласса (IgG1, 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 ареактивность, 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 $t\ 37^{\circ}\text{C}$ на 2 часа. После выдержки в термостате штатив с реакцией выдерживают при комнатной температуре или «на холоду» ($+3^{\circ}$ $+5^{\circ}\text{C}$) в течение 18 часов.

Компоненты реакции	Опыт					сыворотки	диагностик ума
	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

1:1600									
1:3200									
Инкубация при $t\ 37^{\circ}\text{C}$; 24 часа.									
Учет результатов									

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
3. Комплемент в рабочей дозе	0,5	0,5	0,5
4. Физиологический раствор	-	0,5	0,5
Инкубация при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ — 40 минут.			
5. Гемолитическая система (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка)	1,0	1,0	1,0

Инкубация при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ — 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	-----	10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8.

Тема: Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция. Методы оценки иммунного статуса человека: проточная цитофлуориметрия с моноклональными CD-антителами, хемилюминесценция лейкоцитов, бласттрансформация лимфоцитов и др. Иммунобиологические препараты: вакцины, анатоксины, сыворотки. Иммуномодуляторы. Пробиотики.

Учебная цель:

7. Изучить тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.
8. Изучить патогенез вторичных иммунодефицитов
9. Изучить генетику иммунодефицитов, особенности наследования.
- 10.** Изучить врожденные иммунодефициты
11. Постановить и учесть функциональное состояние фагоцитов,
12. Определить активность комплемента крови

План занятия:

- 10.** Иммунный статус и принципы его оценки.
11. Возрастные особенности иммунного статуса.
12. Методы исследования лимфоцитов, оценка функционального состояния фагоцитов.
13. Определение комплемента
14. Тесты первого и второго уровня, их клиническая интерпретация.
15. Генетика иммунодефицитов, особенности наследования.
16. Врожденные иммунодефициты (классификация, диагностика)
17. Врожденные иммунодефициты у детей.
- 18.** Вторичная иммунологическая недостаточность (ВИН) – классификация, этиология, диагностика

Самостоятельная работа студентов:

1. Постановка и учет функционального состояния фагоцитов,
2. Определение комплемента
3. Оценить и интерпретировать показатели иммунного статуса при вторичной иммунологической недостаточности по готовым иммунограммам

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 созревают 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 C2 и C4 синтезируются макрофагами, C5 и C4 — в печени, лёгких, перитонеальных клетках, C3 и C1 — 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-фетопротеин, а-2-глобулин. Резко ограничено в этот период влияние на В-клетки Т-лимфоцитов и макрофагов.

Преждевременная активация иммунной системы наблюдается при внутриутробном инфицировании. Практически всегда это сопровождается 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 беременности. Способность плода образовывать компоненты системы комплемента неполноценна. В III триместре её уровень хотя и возрастает, 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 изогемагглютинидами, 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, достигающий 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 реакгена 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 количества. Плазматические 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 тракта, 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 Ag.

Местный иммунитет обуславливается 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 малой 12 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 годовичного 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 иммуностроительных 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 стартовых 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 период новорожденностиTM, 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 тимocyты 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 реакций сохраняется при 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 IgG4 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 атопических, 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 иммунного статуса. Т — звено иммунитета. Количество лимфоцитов периферической крови при рождении в первые сутки жизни составляет 24—30%, а абсолютное число — $3\text{—}9 \cdot 10^9/\text{л}$. Затем их относительное количество нарастает и к 4—5-м суткам достигает 40—50%, абсолютное — $2,5\text{—}10$ млрд/л.

Лимфоциты новорожденных 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 новорожденных. 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%. Подъём 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.

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 к-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-рецессивная
дефицит аденозиндезаминазы
дефицит пурипнуклеозидфосфорилазы
дефицит молекул II класса МНС (синдром лысых лимфоцитов)
ретикулярная дизгенезия
дефицит CD3 γ или CD3 ϵ
дефицит CD8 лимфоцитов
недостаточность системы комплемента
дефекты фагоцитоза
наследственные нейтропении
инfantильный летальный агранулоцитоз (болезнь Костмана)
циклическая нейтропения
семейная доброкачественная нейтропения
дефекты фагоцитарной функции
хроническая гранулематозная болезнь
Х-сцепленная
аутосомно-рецессивная
дефицит адгезии лимфоцитов I типа
дефицит адгезии лейкоцитов 2 типа
дефицит глюкозо-6-дегидрогеназы 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 сенсibilизация 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 из которых является иммуноглобулинами и другими компонентами иммунной системы (белки системы комплемента, С-реактивный белок). Во время кровотечений теряется не только плазма, но и клетки крови, поэтому на фоне сильного кровотоечения 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 проходящий 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	-----	10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9.

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

- 1. стафило-, энтеро- и стрептококки (бактериологический метод)**
- 2. нейссерии и микоплазмы (микроскопический метод)**

УЧЕБНАЯ ЦЕЛЬ:

5. Изучить биологические свойства стафилококков.
6. Изучить методы микробиологической диагностики стафилококковых, стрептококковых заболеваний.
7. Изучить морфологические и культуральные свойства патогенных грамположительных и грамотрицательных стрепто- и диплококков (нейссерий).
8. Освоить основные методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых патогенными диплококками.

ПЛАН ЗАНЯТИЯ:

13. Морфология, культуральные и биохимические свойства стафилококка.
14. Факторы вирулентности стафилококка.
15. Антигены стафилококка.
16. Заболевания, вызываемые стафилококком.
17. Методы диагностики и исследуемый материал при стафилококковых заболеваниях.
18. Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых заболеваний.
19. Морфологическая характеристика пневмококка (*Streptococcus pneumoniae*), менингококка, гонококка.
20. Сравнительная характеристика биохимической активности и потребности в питательных средах для диплококков разных видов.
21. Дифференциально-диагностические признаки (отличия) патогенных и непатогенных нейссерий.
22. Факторы вирулентности патогенных диплококков.
23. Источник инфекции, пути передачи, входные ворота при заболеваниях, вызванных диплококками.

24. Исследуемый материал и основные методы диагностики при патологических процессах, вызываемых диплококками.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ:

10. Изучить морфологию стафилококка в мазке из чистой культуры, описать, зарисовать.
11. Дать макроскопическую характеристику колоний на молочно-солевом агаре (бактериологический метод диагностики, 1-й этап исследования).
12. 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 целью 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.
13. Описать препараты для специфической терапии и профилактики стафилококковых заболеваний (стафилококковый анатоксин, антистафилококковая плазма, противостафилококковый иммуноглобулин, стафилококковый бактериофаг).
14. Изучение морфологии пневмококков (*Str. pneumoniae*) в мазках-отпечатках из органов белой мыши, зараженной внутрибрюшинной мокротой больного пневмонией. Окраска по Граму (таблица).
15. Изучение биохимической активности пневмококков с целью дифференциации их от стрептококков. Посев на среды с инулином и желчью.
16. Микроскопический метод диагностики острой гонореи: микроскопия мазка гнойного отделяемого уретры больного острой гонореей. Окраска метиленовым синим.
17. Серологический метод диагностики хронической гонореи: оценить демонстрационную реакцию связывания комплемента (по Борде-Жангу), поставленную с целью обнаружения антител в сыворотке больного гонореей.
18. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
Штатив – 8 шт.
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 колоний. 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 Андрее - 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 опсонизирующего действия антител.

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

2. 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 их гибели;

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

5.Экзотоксины:

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

-лейкоцидин разрушает лейкоциты;

эксфолиатины вызывают повреждение и отслодку 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 гемолизина, 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 конъюнктивы
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 негемолитическим.

Биохимические свойства. При идентификации стрептококков учитывают их способность ферментировать углеводы, расти на средах с желчью, а также на средах с высокой концентрацией NaCl 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.pyogenes* (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 эпидемиологически значимым для человека является вид *S.pyogenes*, 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.aquas* – 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 + кокки, расположенные

1-ый	Посев гоня в чашки с желчно-солевым агаром	небольшими гроздьями, 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 чувствительности к антибиотикам методом бумажных дисков.	
4-ый	Заключение по проведенному исследованию	Выделена культура патогенного стафилокка. 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 обусловлено 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 обуславливают 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.) обуславливают 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 гиперемизованном 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.

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 взесь 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 по опытной пробирке.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ К ТЕМЕ:

Менингококки (*Neisseria meningitidis*)- 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 meningitidis* имеет родовые антигены общие для всех видов. Внутри вида по капсульным полисахаридным антигенам различают серогруппы *N meningitidis*-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 ориентирующий. В мазках из нативного материала с окраской по Грамму

выделяется внутриклеточное расположение бактерий и характерная картина незавершенного фагоцитоза менингококков.

Специфическая профилактика менингококковой инфекции проводится 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 гонококков:

7. Пили - обеспечивают адгезию к клеткам цилиндрического эпителия мочеполовых путей;
 8. Капсула - в свежeweделенных культурах обладает антифагоцитарным действием;
 9. Клеточная стенка содержит эндотоксин.
 10. Поверхностный белок 1 класса обуславливает к бактерицидным факторам;
 11. Поверхностный белок 2 класса образует отдельную белковую фракцию называемые протеинами мутности или Ора – 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 lancetovидные или располагающиеся в виде цепочек, имеющие полисахаридную капсулу, которая позволяет легко « типировать» их специфическими антисыворотками. Пневмококки неподвижны, спор не образуют; факультативные 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 визуальное 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	-----	10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10.

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

- 1. коринебактерии, актиномицеты, листерии (микроскопический и бактериологический методы)**
- 2. анаэробные бактерии (микроскопический, бактериологический методы)**

Учебная цель:

1. Обучить студентов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша.
2. Изучить лабораторную диагностику актиномицет.
3. Изучить современные методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых анаэробами.
4. Изучить препараты для специфической профилактики и терапии анаэробных заболеваний.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики дифтерии, коклюша.
4. Современные представления об этиологии анаэробной инфекции. Клостридиальная и неклостридиальная анаэробная инфекция.
5. Морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителей анаэробной инфекции: клостридий (газовой гангрены, столбняка, ботулизма), пептострептококков, бактероидов, фузобактерий, анаэробных вибрионов, кампилобактерии и спирохет.
6. Патогенетические аспекты анаэробной инфекции: первичная экзогенная и вторичная, эндогенная. Механизмы возникновения. Оппортунистические анаэробные и смешанные инфекции.
7. Методы микробиологической диагностики анаэробной инфекции.

8. Принципы специфической профилактики анаэробной инфекции. Препараты для активной и пассивной иммунизации.
9. Принципы специфической терапии анаэробной инфекции. Этиотропная и патогенетическая терапия: антибактериальная, гипербарическая оксигенация и т.п.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Приготовление 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.
5. Микроскопический метод диагностики газовой гангрены: изучение мазка-отпечатка из гнойной раны, окраска по Граму.
6. Бактериологический метод диагностики анаэробной инфекции:
 - 1-й этап - изучение на 5% кровяном агаре изолированных колоний бактериоидов и пептострептококков, выделенных из гнояного 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 AP1-Ап (принцип «пестрого ряда»).
7. Определение чувствительности анаэробных бактерий к антибиотикам (микрометод). Демонстрация результатов посева чистой культуры в микрокасету с антибиотиками.
8. Описание препаратов для специфической профилактики клостридиальной анаэробной инфекции: тетраанотоксин газовой гангрены, пентаанотоксин (+ столбнячный анатоксин), противостолбнячный компонент препаратов АДС и вакцин АКДС, ТАВте.
9. Описание препаратов для специфической терапии клостридиальной анаэробной инфекции: поливалентная противогангренозная сыворотка, антитоксическая противостолбнячная сыворотка, антитоксические моноклональные и поливалентные противоботулинические сыворотки.
10. 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. 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. Демонстрация: Китта-Тароцци и сахарный столбик– 4 шт.
10. Демонстрация: микропрепараты патогенных анаэробов
11. Бак. препараты
12. Таблиц

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 метакроматические зёрна волютин, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютин 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, обуславливающее 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 фибриновой пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибриновая 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 демиелинизацией 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 (whooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракклюш - 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 обуславливает 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 паракклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракклюша 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. Воратами 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 сенсibilизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обуславливает 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 противокклюшные 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 удастся. 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.

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 анаэроостате: 80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂) 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-Ап 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 анаэроостате) 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 мяса и рыбы. Вызывает помутнение среды и газообразование.

Все типы клостридии ботулизма образуют сероводород.

Антигенная структура имеют группоспецифические (H) жгутиковые и типоспецифические соматические (O) 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 *Clostridium perfringens*.

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

Культуральные свойства. На плотных средах *C. Perfringens* типа А образует S и R – колонии круглые. S- колонии куполообразные, 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.

Clostridium perfringens 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 № 11

ТЕМА: Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций. Отработка методов диагностики на примере следующих возбудителей:

1. возбудители кишечных инфекций (бактериологический, серологический методы)
2. возбудители ИППП (серологический, молекулярно-биологический методы)

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

ПЛАН:

13. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
14. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
15. Принципы микробиологической диагностики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
16. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза.
17. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей брюшного тифа, сальмонеллез.
18. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
19. Принципы микробиологической диагностики брюшного тифа, сальмонеллез.
20. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики брюшного тифа, сальмонеллез.
21. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей шигеллеза, холеры.
22. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
23. Принципы микробиологической диагностики шигеллеза, холеры.
24. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики шигеллеза, холеры.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

11. Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).
12. Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
13. Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).
14. Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
15. Оформление протокола исследования.
16. Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
17. Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
18. Учет результатов реакции Видаля.
19. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
20. 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.
Флаконт 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 посе́вы 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 Андрее.

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°C) 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°C, 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 *Escherichia*, роду *Escherichia*, семейству *Enterobacteriaceae*, 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, неправомерен 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, хорошо растет на обычных питательных средах при низких температурах. 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 бактериологический 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.

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 мечеными 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. Основным источником 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 «транзитное» 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	----- 10 мин.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12.

ТЕСТОВЫЙ КОНТРОЛЬ.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

***ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ - МИКРОБИОЛОГИИ
ПОЛОСТИ РТА
ДЛЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
(2 КУРС, ВЕСЕННИЙ СЕМЕСТР)***

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 цилиндр.

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) Трепонема;
- 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 обуславливает 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 Циллю-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, располагающиеся 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 M-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 Бурриогинсу;
- Г) По Ожешки.

16. Что такое мутагены?

- А) Гены, обеспечивающие мутацию;
- Б) Факторы, вызывающие мутацию;
- В) Факторы, восстанавливающие ДНК;
- Г) Факторы, 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 бактерий 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 цилиндр.

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 бактерии:

- 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 обуславливает 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 теиховые 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 Циллю-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, располагающиеся 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 M-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 БурриоГинсу;
- Г) По Ожешки.

16. Что такое мутагены?

- А) Гены, обеспечивающие мутацию;
- Б) Факторы, вызывающие мутацию;
- В) Факторы, восстанавливающие ДНК;
- Г) Факторы, 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 бактерий 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. D₅₀ 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. Естественный 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 интервенций:

- 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 плазмócитами;
- 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. Прдромальный;
- 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. Эрне 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 E;
- В. Класса D;
- Г. Класса A.

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. Гуморальный 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. Эрне 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 цитотоксичностью 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.

АНТИТЕЛ»

IV ВАРИАНТ

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Факторы, обуславливающие 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 Е.

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 антигену;
- 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. H-антиген;
- Б. O-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.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

***ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ - МИКРОБИОЛОГИИ
ПОЛОСТИ РТА
ДЛЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
(2 КУРС, ОСЕННИЙ СЕМЕСТР)***

Владикавказ

«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 H₂S;
- 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:**
 - A. S.aureus*;
 - B. S.pyogenes*;
 - B. 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. Парно;
- 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 H₂S.

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. Иммунизация 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 серогруппе O1:**
- 2. **Устойчив к полимиксину:**
- 3. **Чувствителен к бактериофагу C:**
- 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 микробиологического 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. Лактозосодержащие 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»

(Выберите один или несколько правильных ответов)

1. Условно-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. E;
- Б. W;
- В. H;
- Г. K;
- Д. O.

8. Какими свойствами обладают бактерии рода Shigella?

- А. Образуют споры;
- Б. Лактозоотрицательны;
- В. Обладают H-антигеном;
- Г. Не продуцируют H₂S.

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. Клингера;
- 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 применяют:

- А. РНГА;
- Б. РСК;
- В. РИФ;
- Г. Развернутая РА.

14. Питательные среды для культивирования сибиреязвенных бактерий:

- А. ЖСА;
- Б. Щелочной агар;
- В. Желчный бульон;
- Г. МПА.

15. Экспресс-диагностика чумы:

- А. Газожидкостная хроматография;
- Б. РИФ;
- В. Фаготипирование;
- Г. Фагодиагностика.

16. Вакцины для профилактики зоонозных бактериальных инфекций:

- 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 мочевины	А. Возбудитель дифтерии
2. Не обладают цистиной	Б. Условно-патогенные коринебактерии
3. Не имеют уреазы	В. Оба
4. Вырабатывают цистинозу	Г. Ни то, ни 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. Назовите 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

20. 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 при 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 <i>gravis</i>	А. Образует крупные гладкие красные колонии
2. Биовар <i>mitis</i>	Б. Образует мелкие черные колонии
	В. Образует крупные шероховатые серые колонии.

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ

1. <i>M. Bovis</i>	А. Морские свинки;
2. <i>M. leprae</i>	Б. Кролики;
3. <i>M. tuberculosis</i>	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 другу.

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 идентификации:

- 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. Иммуитет 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. Иммуитет при сыпном тифе:

- А. Антибактериальный;
- Б. Антитоксический;
- В. Нестерильный;
- Г. Местный.

18. Методы культивирования риккетсии:

- А. На кровяном агаре;
- Б. В анаэроостате;
- 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
- Б. Противостолбнячная сыворотка
- В. АДС-м
- Г. Противогангренозная сыворотка
- 1. Столбняк
- 2. Газовая гангрена
- 3. Оба
- 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 другого

**«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 обусловлено 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 культивируют 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 A2;
- 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. <i>B. burgdorferi</i>
Б. Сифилис	2. <i>L. interrogans</i>
В. Болезнь Лайма	3. <i>B. recurrentis</i>
Г. Лептоспироз	4. <i>T. pallidum</i>

**«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. Токсинемиической 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. Контактнo-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. Иммуитет при сыпном тифе:

- А. Антибактериальный;
- Б. Антитоксический;
- В. Нестерильный;
- Г. Местный.

18. Методы культивирования риккетсии:

- А. На кровяном агаре;
- Б. В анаэробной среде;
- 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 сыворотка	2. Газовая гангрена
В. АДС-М	3. Оба
Г. Противогангренозная сыворотка.	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 культивируют 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 A2;
- 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. <i>B. burgdorferi</i>
Б. Сифилис	2. <i>L. interrogans</i>
В. Болезнь Лайма	3. <i>B. recurrentis</i>

Г. Лептоспироз

4. T.pallidum

20. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Грамотрицательные

Б. Кокки

В. Палочки

Г. Образуют субтерминальные споры

1. Бактероиды

2. Вейлонеллы

3. Оба

4. Ни то, ни другое.

21. Составьте логические пары: вопрос-ответ

А. Гр+Кокки

Б. Гр+ палочки

В. Аэробы

Г. Анаэробы

1. Пептострептококки

2. Клостридии

3. Оба

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 РгР^с-белков в РгР^{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 полиомиелита 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 мицелиарным 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 эпидемического 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) VГА;
 - 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) Н 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) инаktivированную вакцину;
- г) гамма-глобулин.

10. Антигенный дрейф и шифт имеют отношение к следующим антигенам вируса гриппа:

- а) рибонуклеопротеиду NP;
- б) матричному белку М;
- в) нейраминидазе N;
- г) гемагглютнину Н.

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:	A. 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	A. 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
- A. 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) НК - клетки (нормальные киллеры);

- б) интерфероны;
- в) sIgA;
- 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 агентами:

- 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) IgG;
- 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 мицелиарным 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) sIgA;

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 цельновирсионную 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