

ОРД-СТОМ.ХИР-23

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- микробиологии

основной профессиональной образовательной программы высшего образования

– программы ординатуры по специальности 31.08.74 Стоматология
хирургическая, утвержденной 13.04.23 г.

Владикавказ, 2023

Методические материалы предназначены для обучения работы ординаторов по специальности 31.08.74 Стоматология хирургическая,
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России
по дисциплине микробиология

Составитель:

Доцент каф. микробиологии ФГБОУ ВО СОГМА,
к.м.н. Черткоева М.Г.

Рецензенты:

Л.В. Бибаева –д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Ф.Т. Бекузарова – начальник отдела эпид. надзора Управления Роспотребнадзора по РСО-Алания.

ПЕРЕЧЕНЬ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ:

- 1.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для ординаторов по специальности 31.08.74 Стоматология хирургическая.
- 2.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для преподавателей (по специальности 31.08.74 Стоматология хирургическая).

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

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

МИКРОБИОЛОГИЯ

**Учебно-методическое пособие для ординаторов по специальности: «Стоматология
хирургическая»**

ВЛАДИКАВКАЗ

Занятие №1

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.
3. Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
4. Изучить методы контроля эффективности стерилизации.

План занятия:

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

Самостоятельная работа ординаторов:

1. 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.

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
пептострептококки

лактобактерии

анаэровибрио
анаэробоспириллы

нейсерии

лептотрихии
грибы кандиды
фузобактерии
бактероиды
вейлонеллы

трихомонады
амёбы

бактероиды
фузобактерии
анаэровибрио
анаэробоспириллы
спирохеты

Обозначения:

- 1- зубной налёт
- 2- икритрещины 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 НАЛЁТА (БЛЯШКИ).



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

3. Оформление протокола исследования

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

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

Стерилизацию производят различными способами:

1. **Физическими** (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, повышенного давления, пара, гамма-лучей, ультразвука).

2. **Химическими** (использование различных дезин-фектантов, антисептиков).

3. **Биологическим** (применение антибиотиков).

4. **Механическими** (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность 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.

Занятие №2

Тема: 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.
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 ординаторов:

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

Характеристика методов стерилизации в стоматологии

	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, 70° 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 коррозионностойкого 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, клеющая 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.

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, манжеты аппаратов для измерения давления,	Дезинфекция уровня: бактерицидные воздействия. Средства для химической дезинфекции без указания на маркировке наличия туберкулоцидной активности.

Занятие №3.

ТЕМА: ВИРУСЫ–ВОЗБУДИТЕЛИ КРОВЯНЫХ ИНФЕКЦИЙ
(возбудители гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, возбудители клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
2. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита, арбовирусных инфекций.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г,ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
5. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

- 1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
- 2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
- 3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций (демонстрация).

ОСНАЩЕНИЕ

- 1.Демонстрация: учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитах В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
- 2.Демонстрация: учет результатов реакции РПГА при гепатите В.
- 3.Демонстрация: РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°С инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°С около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°С в течение 60 минут, прогревании при 60°С в течение 10 часов.

Механизм передачи инфекции — парентеральный. Заражение происходит естественным (половой, вертикальный, бытовой) и искусственным (парентеральным) путями. Вирус присутствует в крови и различных биологических жидкостях — слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, менструальной крови и др. Контагиозность (заразность) вируса гепатита В превышает контагиозность ВИЧ в 100 раз.

Наибольшее значение раньше повсеместно имел именно парентеральный путь — заражение при лечебно-диагностических манипуляциях, сопровождающихся нарушением целостности кожного или

слизистого покрова через медицинский, стоматологический, маникюрный и прочий инструментарий, трансфузии крови и её препаратов.

Патогенез. Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.

Инкубационный период (время с момента заражения до появления симптомов) гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идет скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности. Некоторые исследователи полагают, что бессимптомное течение, безжелтушная форма и «желтушный» гепатит составляют равные по количеству пораженных лиц группы. То есть выявленные диагностированные случаи острого гепатита В составляют только одну треть всех случаев острого гепатита.

Вакцинация. Обязательная вакцинация. С недавнего времени вакцинация против гепатита В была включена в обязательный календарь прививок. Новорожденные наиболее чувствительны к вирусу гепатита В – в случае инфицирования в этом возрасте, риск приобретения хронической формы гепатита В составляет 100%. В то же время иммунитет, создаваемый вакциной в этот период жизни, наиболее стойкий. Рекомендовано прививать новорожденного еще в родильном доме, затем через 1 месяц после первой прививки, и через 6 месяцев после первой прививки (так называемая схема 0-1-6). При пропуске очередной инъекции следует помнить о допустимых интервалах - 0-1(4)-6(4-18) месяцев. Однако если были пропущены допустимые интервалы, необходимо продолжать вакцинацию по схеме, как если бы пропуска не было. Если вакцинация проведена по стандартной схеме, повторная вакцинация обычно не требуется, поскольку иммунитет сохраняется по меньшей мере в течение 15 лет. Для определения, насколько долго сохраняется иммунитет в течение жизни, необходимы дальнейшие исследования – ведь вакцинация начала применяться относительно недавно. Только после проведения всего курса вакцинации, достигается почти 100%-ый иммунитет. Около 5% общей популяции не отвечает на вакцинацию, в этих случаях следует использовать другие виды вакцин против гепатита В.

Лабораторная диагностика ГВ - основана на выявлении специфических для ГВ антигенов и соответствующих антител в крови, а также вирусных нуклеиновых кислот, основными из которых являются:

HB sAg - анти-HB s

анти-HBc класса Ig M и IgG

HBe Ag - анти-HBe

ДНК ВГВ

Наиболее широко в диагностике ГВ используется определение HBsAg. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании (однако острая инфекция обычно подтверждается наличием высоких титров анти-HBc IgM). При остром ГВ поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистирование HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса. Элиминация HBsAg и появление антител к нему является 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 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 виридам 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 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. 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.

Клещевой энцефалит — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного (энцефалит) и/или оболочек головного и спинного мозга (менингит и менингоэнцефалит). Заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям и даже к смерти больного.

Вирус клещевого энцефалита — нейротропный, РНК-содержащий. Относится к роду Flavivirus. Входит в семейство тогавирусов экологической группы арбовирусов. Возбудитель способен длительно сохранять вирулентные свойства при низких температурах, но нестоек к высоким температурам (при кипячении погибает через 2-3 мин), дезинфицирующим средствам и ультрафиолетовому излучению. Основным резервуаром, поддерживающим существование возбудителя являются: иксодовые клещи — Ixodes persulcatus (преимущественно в азиатском регионе России) и Ixodes ricinus (преимущественно в европейском регионе). Традиционные районы распространения клещевого энцефалита — Сибирь, Урал, Дальний Восток. В то же время случаи заражения встречаются и в средней полосе России, Северо — Западном регионе, Поволжье. Естественным резервуаром вируса и его источником являются более 130 видов различных теплокровных диких и домашних животных и птиц: грызуны, зайцы, насекомоядные, хищники и копытные. Клещи заражаются от животных-носителей вируса и передают вирус человеку.

Для заболевания характерна строгая весенне-летняя сезонность заболевания, соответствующая активности клещей.

Пути передачи: трансмиссивный (присасывание клеща), редко — алиментарный (употребление в пищу сырого молока коз и коров).

Человек заражается при укусе инфицированных клещей. Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, на этих клетках происходит адсорбция вируса, рецепторный эндоцитоз, «раздевание» РНК. Затем в клетке начинается репликация РНК и белков капсида, формируется зрелый вирион. Путём почкования через модифицированные мембраны эндоплазматического ретикулума вирионы собираются в везикулы, которые транспортируются к наружной клеточной мембране и покидают клетку. Наступает период вирусемии, вторичная репродукция происходит в регионарных лимфоузлах, в клетках печени, селезенки и эндотелия сосудов, затем вирус попадает в двигательные нейроны передних рогов шейного отдела спинного мозга, клетки мозжечка и мягкой мозговой оболочки.

Серологический метод. Материалом являются парные сыворотки больного. Определение диагностического нарастания титра антител в реакциях РТГА (реакция торможения гемагглютинации) и ИФА (иммуноферментный анализ).

Молекулярно-биологический метод. Материалом является клещ. Клеща исследуют на наличие антигена вируса клещевого энцефалита, реже с помощью ПЦР (полимеразно-цепная реакция) выявляют вирусную РНК (клеща). Для исследований на наличие антигена используют живой материал, ПЦР диагностика возможна по фрагментам клеща.

Вирусологический метод. Выделение вируса из крови и спинно-мозговой жидкости путем введения материала в мозг новорожденным белым мышам.

Арбовирусы (от англ. arthropod-borne viruses) — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК, двуцепочечную РНК (реовирусы) или двуцепочечную ДНК (в случае Asfarvirus) и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать развитие таких заболеваний, как энцефалит, лихорадка Денге, лихорадка паппатачи и жёлтая лихорадка.

Арбовирусы широко распространены на земном шаре, встречаясь, однако, преимущественно в жарких странах.

Размеры их варьируют от 30—40 до 150—180 мкм. Большинство изученных арбовирусов — сферической формы и построены по кубическому типу симметрии; некоторые (с винтовым типом симметрии) имеют форму палочки с одним концом закругленным, а другим плоским.

Арбовирусы разрушаются под действием эфира, хлороформа и дезоксихолата. При t° 56—60° инаktivация происходит в течение 10—30 мин. Погибают при $pH = 3,0$. Протеолитические ферменты разрушают вирусы группы Б и совершенно не оказывают влияния на группу А.

Все арбовирусы патогенны для новорожденных мышей при заражении в мозг; многие из них патогенны для различных животных при разных путях введения. Патогенность для человека установлена уже более чем у 50 арбовирусов.

Размножаются в куриных эмбрионах, причем вирусы группы А часто вызывают их быструю гибель в течение 24—48 час. Культуры тканей многих видов животных, человека, птиц, комаров и клещей, а также культуры перевиваемых клеток способны поддерживать размножение арбовирусов *in vitro*; цитопатический эффект зависит от вида вируса и ткани; наиболее употребительны первичные культуры куриных фибробластов, почек хомячка и перевиваемые клетки HeLa. Подавляющее большинство арбовирусов обладает гемагглютинирующими свойствами. Гемагглютинины, устойчивые в щелочной среде ($pH=8,0—9,0$) и быстро погибающие в кислой ($pH=6,0$), выявляются в мозге, сыворотке крови зараженных мышей и в жидкой фазе тканевых культур после удаления ингибиторов. Для гемагглютинации используют 0,25% взвесь эритроцитов гусей или новорожденных цыплят. Гемагглютинация протекает в узкой, оптимальной для каждого вируса зоне pH . Лабораторная диагностика осуществляется выделением вирусов на 1—2-дневных мышках и тканевых культурах. Серологическая диагностика осуществляется при помощи РСК, реакций торможения гемагглютинации и нейтрализации с сыворотками реконвалесцентов.

Основанием для включения в группу арбовирусов новых членов служат: чувствительность к дезоксихолату, способность размножаться в комарах *Aedes aegypti* или наличие перекрестных серологических реакций с каким-нибудь представителем арбовирусов.

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

МИКРОБИОЛОГИЯ

**Учебно-методическое пособие для преподавателей по специальности «Стоматология
хирургическая» (ординатура)**

ВЛАДИКАВКАЗ

Занятие №1

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.
3. Изучить методы стерилизации (физические, механические, химические).
4. Изучить методы контроля эффективности стерилизации.

План занятия:

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

Самостоятельная работа ординаторов:

1. 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.

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 парадонтального кармана

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА

коринебактерии
лактобактерии

Актиномицеты
Strept.mutans
пептострептококки

спирохеты
лактобактерии

анаэровибрио
анаэробоспириллы

нейсерии

лептотрихии
грибы кандиды
фузобактерии
бактероиды
вейлонеллы

трихомонады
амёбы

бактероиды
фузобактерии
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 налёта и слизистой языка.

3. Оформление протокола исследования

Таблица. Забор исследуемого материала зубной бляшки

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

СХЕМА ФОРМИРОВАНИЯ ЗУБНОГО НАЛЁТА (БЛЯШКИ).



2. Микроскопическое исследование демонстрационных мазков чистых культур бактерий,

выделенных из полости рта (лактобактерий, пептококков, бактероидов).

3. Оформление протокола исследования

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для микробиологического исследования:
Штатив- 8 шт.
Пинцет – 8 шт.
Бактериологическая петля-8 шт.
Лоток с подставкой - по 8шт.
Предметные стекла
Спиртовка -8шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
2. Для опыта:
Пробирка с взвесью кишечной палочки – 2шт.
Пробирка с взвесью стафилококка- 2шт.
Пробирка с взвесью антракоида- 2 шт.
Водяная баня -1 шт.
Стерильные скошенные агары -12 шт.
3. Демонстрация: печи Пастера, автоклава, аппарата Коха.
4. Препараты для асептики и антисептики.
5. **Таблицы.**

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

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

Стерилизацию производят различными способами:

5. Физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, повышенного давления, пара, гамма-лучей, ультразвука).

6. Химическими (использование различных дезин-фектантов, антисептиков).

7. Биологическим (применение антибиотиков).

8. Механическими (фильтрование).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность 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.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний 90 мин.
2. Самостоятельная работа 130 мин.

- | | |
|---|---------|
| 3. Проверка протоколов | 45мин. |
| 4. Уборка рабочего стола | 45мин. |
| 5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом. | 55 мин. |

Занятие №2

Тема: 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 ординаторов:

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

Характеристика методов стерилизации в стоматологии

	Метод	Аппарат	Режим	Надёжность и показания	Объекты стерилизации
1.	Паром под давлением				
2.	Сухим жаром				
3.	Газовая стерилизация.				
4.	Химическая стерилизация.				
5.	Ультразвуком.				

б.	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

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 небыющих 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.

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, манжеты аппаратов для измерения давления, настольные приборы	Дезинфекция уровня: бактерицидные воздействия. Средства для химической дезинфекции без указания на маркировке наличия туберкулоцидной активности.

ХРОНОМЕТРАЖ

1.Определение исходного уровня знаний	80 мин.
2.Самостоятельная работа	90 мин.
3.Проверка протоколов	45мин.
4.Уборка рабочего стола	45мин.
5.Контроль конечного уровня знаний и задание на дом.	55 мин.

Занятие №3.

ТЕМА: ВИРУСЫ–ВОЗБУДИТЕЛИ КРОВЯНЫХ ИНФЕКЦИЙ

(возбудители гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, возбудители клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
2. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций.

ПЛАН:

6. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита, арбовирусных инфекций.
7. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
8. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
9. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г,ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
10. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

- 1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
- 2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
- 3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций (демонстрация).

ОСНАЩЕНИЕ

- 1.Демонстрация: учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
- 2.Демонстрация: учет результатов реакции РПГА при гепатите В.
- 3.Демонстрация: РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°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 (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 HB-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 помощь вируса ГВ для синтеза оболочечных белков, состоящих из HBsAg, который используется для инкапсуляции генома ВГД. ВГД не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов животных, по своим свойствам ВГД наиболее близок к вироидам и сателлитным вирусам растений. Лабораторная диагностика осуществляется путем обнаружения серологических маркеров ВГД, включая наличие антигена, антител к нему и РНК ВГД. Обнаружение антигена ВГД и РНК ВГД в сыворотке крови или ткани печени свидетельствует о наличии активной ГД-инфекции, однако, следует отметить, что эти маркеры могут не обнаруживаться в сыворотке больных фульминантным ГД. Маркером активной репликации ВГД также является анти-ВГД класса IgM. Серологические маркеры инфекции ГД зависят от того, как был приобретен вирус – в виде коинфекции с ВГВ (у большинства больных заболевание имеет острое течение и заканчивается выздоровлением) или суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией (протекает тяжелее, чем коинфекция - в 10% развивается фульминантный гепатит). При суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией серологическая картина имеет следующие характерные особенности: – титр HBsAg снижается к моменту появления антигена ВГД в сыворотке; - антиген ВГД и РНК-ВГД продолжают определяться в сыворотке, так как обычно у большинства пациентов с суперинфекцией ГД (70-80%) развивается хроническая инфекция, в отличие от случаев коинфекции; - определяются высокие титры антител (анти-ВГД) как класса IgM, так и IgG, которые сохраняются неопределенное время. Серологические маркеры вируса ГД определяют методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа, а РНК-ВГД - методом полимеразной цепной реакции.

Гепатит С — антропонозное вирусное заболевание с парентеральным механизмом заражения, наиболее часто протекающее в виде посттрансфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и склонное к хронизации.

Гепатит С называют «ласковым убийцей» из-за способности маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний.

Парентеральный вирусный гепатит С вызывается РНК-содержащим вирусом с размером вириона 30-60 нм, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирусные частицы HCV имеют оболочку, содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам вируса гепатита С. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и анти-HCV антителами, имеют диаметр 60-70 нм. При электронно-микроскопическом изучении на поверхности вириона выявлены хорошо выраженные выступы высотой 6-8 нм.

Источником инфекции являются больные с активным гепатитом С и латентные больные — носители вируса. HCV-инфекция является инфекцией с парентеральным механизмом заражения — через инфицированную кровь и её компоненты. Инфицирование возможно при парентеральных манипуляциях, в том числе в медицинских учреждениях, включая оказание стоматологических услуг, через инъекционное оборудование, при акупунктуре, пирсинге, нанесении татуировок, при оказании ряда услуг в парикмахерских, однако при половых контактах вероятность заболеть гепатитом С гораздо меньше, чем гепатитом В, и сводится к минимальным показателям.

Лабораторная диагностика гепатита С (ГС). Лабораторная диагностика ГС была решена при помощи современных методов молекулярной биологии, учитывая, что при ГС вирус находится в крайне низкой концентрации и его антигены не доступны выявлению с помощью современных методов индикации, усилия исследователей сосредоточены на выявлении антител к различным антигенным компонентам вируса, обнаружение которых может служить индикатором наличия вируса. В качестве антигенов использовали белки,

кодированные структурной и неструктурной зоной РНК-ВГС, полученные при помощи рекомбинантной 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. 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.

Клещевой энцефалит — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного (энцефалит) и/или оболочек головного и спинного мозга (менингит и менингоэнцефалит). Заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям и даже к смерти больного.

Вирус клещевого энцефалита — нейротропный, РНК-содержащий. Относится к роду *Flavivirus*. Входит в семейство тогавирусов экологической группы арбовирусов. Возбудитель способен длительно сохранять вирулентные свойства при низких температурах, но нестойк к высоким температурам (при кипячении погибает через 2-3 мин), дезинфицирующим средствам и ультрафиолетовому излучению. Основным резервуаром, поддерживающим существование возбудителя являются: иксодовые клещи — *Ixodes persulcatus* (преимущественно в азиатском регионе России) и *Ixodes ricinus* (преимущественно в европейском регионе). Традиционные районы распространения клещевого энцефалита — Сибирь, Урал, Дальний Восток. В то же время случаи заражения встречаются и в средней полосе России, Северо — Западном регионе, Поволжье. Естественным резервуаром вируса и его источником являются более 130 видов различных теплокровных диких и домашних животных и птиц: грызуны, зайцы, насекомоядные, хищники и копытные. Клещи заражаются от животных-носителей вируса и передают вирус человеку.

Для заболевания характерна строгая весенне-летняя сезонность заболевания, соответствующая активности клещей.

Пути передачи: трансмиссивный (присасывание клеща), редко — алиментарный (употребление в пищу сырого молока коз и коров).

Человек заражается при укусе инфицированных клещей. Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, на этих клетках происходит адсорбция вируса, рецепторный эндоцитоз, «раздевание» РНК. Затем в клетке начинается репликация РНК и белков капсида, формируется зрелый вирион. Путём почкования через модифицированные мембраны эндоплазматического ретикулума вирионы собираются в везикулы, которые транспортируются к наружной клеточной мембране и покидают клетку. Наступает период вирусемии, вторичная репродукция происходит в регионарных лимфоузлах, в клетках печени, селезенки и эндотелия сосудов, затем вирус попадает в двигательные нейроны передних рогов шейного отдела спинного мозга, клетки мозжечка и мягкой мозговой оболочки.

Серологический метод. Материалом являются парные сыворотки больного. Определение диагностического нарастания титра антител в реакциях РТГА (реакция торможения гемагглютинации) и ИФА (иммуноферментный анализ).

Молекулярно-биологический метод. Материалом является клещ. Клеща исследуют на наличие антигена вируса клещевого энцефалита, реже с помощью ПЦР (полимеразно-цепная реакция) выявляют вирусную РНК (клеща). Для исследований на наличие антигена используют живой материал, ПЦР диагностика возможна по фрагментам клеща.

Вирусологический метод. Выделение вируса из крови и спинно-мозговой жидкости путем введения материала в мозг новорожденным белым мышам.

Арбовирусы (от англ. arthropod-borne viruses) — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК, двуцепочечную РНК (реовирусы) или двуцепочечную ДНК (в случае Asfarvirus) и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать развитие таких заболеваний, как энцефалит, лихорадка Денге, лихорадка паппатачи и жёлтая лихорадка.

Арбовирусы широко распространены на земном шаре, встречаясь, однако, преимущественно в жарких странах.

Размеры их варьируют от 30—40 до 150—180 нм. Большинство изученных арбовирусов — сферической формы и построены по кубическому типу симметрии; некоторые (с винтовым типом симметрии) имеют форму палочки с одним концом закругленным, а другим плоским.

Арбовирусы разрушаются под действием эфира, хлороформа и дезоксихолата. При $t^{\circ} 56—60^{\circ}$ инаktivация происходит в течение 10—30 мин. Погибают при $pH = 3,0$. Протеолитические ферменты разрушают вирусы группы Б и совершенно не оказывают влияния на группу А.

Все арбовирусы патогенны для новорожденных мышей при заражении в мозг; многие из них патогенны для различных животных при разных путях введения. Патогенность для человека установлена уже более чем у 50 арбовирусов.

Размножаются в куриных эмбрионах, причем вирусы группы А часто вызывают их быструю гибель в течение 24—48 час. Культуры тканей многих видов животных, человека, птиц, комаров и клещей, а также культуры перевиваемых клеток способны поддерживать размножение арбовирусов *in vitro*; цитопатический эффект зависит от вида вируса и ткани; наиболее употребительны первичные культуры куриных фибробластов, почек хомячка и перевиваемые клетки HeLa. Подавляющее большинство арбовирусов обладает гемагглютинирующими свойствами. Гемагглютинины, устойчивые в щелочной среде ($pH=8,0—9,0$) и быстро погибающие в кислой ($pH=6,0$), выявляются в мозге, сыворотке крови зараженных мышей и в жидкой фазе тканевых культур после удаления ингибиторов. Для гемагглютинации используют 0,25% взвесь эритроцитов гусей или новорожденных цыплят. Гемагглютинация протекает в узкой, оптимальной для каждого вируса зоне pH . Лабораторная диагностика осуществляется выделением вирусов на 1—2-дневных мышках и тканевых культурах. Серологическая диагностика осуществляется при помощи РСК, реакций торможения гемагглютинации и нейтрализации с сыворотками реконвалесцентов.

Основанием для включения в группу арбовирусов новых членов служат: чувствительность к дезоксихолату, способность размножаться в комарах *Aedes aegypti* или наличие перекрестных серологических реакций с каким-нибудь представителем арбовирусов.

ХРОНОМЕТРАЖ

1.Определение исходного уровня знаний	90 мин.
2.Самостоятельная работа	100 мин.
3.Проверка протоколов	45мин.
4.Уборка рабочего стола	45мин.
5.Контроль конечного уровня знаний и задание на дом.	35 мин.