

Государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Ивановская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения и социального развития  
Российской Федерации

Кафедра микробиологии и вирусологии

# **МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ**

*Методические разработки  
для самостоятельной подготовки студентов  
2 и 3 курсов лечебного и педиатрического  
факультетов*

Иваново 2012

*Составитель* – Е. В. Гарасько

*Печатается по решению методической комиссии по естественнонаучным дисциплинам от 08.12.2011 г. (протокол № 1).*

Обобщены данные научной и учебной литературы, разработаны ориентировочные основы действий. Издание составлено в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования по направлению подготовки специальностей «Лечебное дело» и «Педиатрия» с учётом рекомендаций примерных образовательных программ высшего профессионального образования и примерных учебных программ дисциплины (2011).

Предназначены для внеаудиторной подготовки студентов 2 и 3 курсов лечебного и педиатрического факультетов.

*Рецензент* – доцент кафедры биологии с экологией ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России кандидат биологических наук О. В. Холмогорская

© ГБОУ ВПО ИвГМА  
Минздравсоцразвития России, 2012

## ВВЕДЕНИЕ

Целью изучения микробиологии является формирование научных знаний о классификации, морфологии и физиологии микроорганизмов, их идентификации; роли и свойствах микроорганизмов, распространении и влиянии их на организм человека; методах микробиологической диагностики; применении основных антибактериальных, противовирусных и биологических препаратов. Знание особенностей взаимодействия микробов с организмом человека и лабораторных животных, механизмов защитных (иммунных) и извращенных (аллергических) реакций макроорганизма на вещества антигенной природы; общих закономерностей и конкретных механизмов возникновения, развития и исходов инфекционных болезней, принципов их выявления, терапии и профилактики помогут студентам проводить микроскопические исследования, выделять чистую культуру микроорганизмов и идентифицировать ее, определять чувствительность к антибиотикам, ставить и оценивать наиболее распространенные серологические реакции.

В последние десятилетия микробиология, вирусология и иммунология пополнились новыми сведениями о микромире, механизмах иммунных реакций, способах и методах специфической диагностики, профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных болезней. Однако усвоение студентами значительно возросших объемов информации представляется проблематичным ввиду явной недостаточности учебных часов. В связи с этим необходимо изыскивать новые формы преподавания со смещением акцентов педагогического процесса в сторону самостоятельной подготовки, внеаудиторной работы, дистанционного обучения, внедрения мультимедийных средств и т. п.

Цель, стоящая перед студентом при изучении дисциплины, – освоение теоретических основ и закономерностей взаимодействия микро- и макроорганизма, практических умений по профилактике, микробиологической, молекулярно-биологической и иммунологической диагностике и основным направлениям лечения инфекционных и оппортунистических болезней человека.

В данном издании поставлены контрольные вопросы и даны ориентировочные основы действия (ООД), ситуационные задачи и тестовые задания по каждой конкретной теме.

Работа на практических занятиях проводится с микроорганизмами и во избежание заражения **студенты обязаны точно соблюдать следующие правила:**

1. На занятия являться в чистом халате, полностью закрывающем одежду. Волосы должны быть убраны под шапочку или косынку.

2. Сумки и портфели складываются на специальные полки у каждого стола.

3. До начала работы следует проверить состояние рабочего места и микроскопа, о неполадках сообщить преподавателю.

4. На рабочем столе разрешается держать рабочую тетрадь, методическое пособие, практическое руководство, ручку, карандаши. Следует помнить о возможности их заражения.

5. При проведении практических занятий необходимо четко выполнять указания преподавателя. Если студент разбил чашку Петри или пробирку с микробами, он обязан сообщить об этом преподавателю и обезвредить рабочее место.

6. Проводя исследование, необходимо строго соблюдать правила работы с заразным материалом: перед взятием материала и после него фламбировать петлю в пламени горелки, отработанные препараты сбрасывать в банки с дезинфицирующим раствором.

7. В случае загрязнения заразным материалом рук, стола, халата и др. следует немедленно сообщить об этом преподавателю, а зараженное место тщательно обработать дезинфицирующим раствором.

8. По окончании работы поверхность стола необходимо продезинфицировать, руки вымыть с мылом и сполоснуть раствором хлорамина.

9. Дежурные проводят дезинфекцию помещения и сдают лабораторию дежурному лаборанту кафедры.

10. В учебной лаборатории категорически запрещено есть, пить, курить.

*Работа в учебной лаборатории требует  
особой дисциплинированности и скрупулезности.*

**Студенты, нарушившие правила, удаляются с занятия!**

# ОБЩАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

## Занятие 1. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИИ БАКТЕРИЙ

Микроскопическая диагностика инфекционных заболеваний требует навыков изучения морфологии бактерий путем микроскопии препарата-мазка, окрашенного простым или сложным способом.

**Цель** – научиться готовить препараты-мазки из чистых культур на жидкой и плотной питательных средах, окрашивать их простыми способами, различать основные формы бактерий.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Изучить оборудование, ознакомиться с правилами поведения и работы в микробиологической лаборатории.
2. Ознакомиться с морфологией микроорганизмов.
3. Восстановить навык работы с биологическим микроскопом, научиться работать с его иммерсионной системой.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Приготовить препараты-мазки из культур бактерий на жидких и плотных питательных средах, зафиксировать их.
2. Окрасить препараты-мазки фуксином и метиленовым синим.
3. Микроскопировать с иммерсионной системой, зарисовать различные формы бактерий.

**Исходные знания.** Устройство и оптические характеристики микроскопа. Схема темнопольного конденсора и фазовоконтрастного устройства. Особенности эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** Морфология микробов. Характеристика микроскопического метода исследования. Простые способы окраски мазков. Значение микроскопического метода в диагностике инфекционного процесса.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 30—33, 36—42.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 48—54.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**ООД по практическому применению знаний  
Приготовление мазка из разного рода исследуемого материала  
и окраска фуксином или метиленовым синим**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Взять предметное стекло	Чистое предметное стекло
2.	Обозначить место нанесения материала стеклографом с обратной стороны стекла	На предметном стекле обозначено место для нанесения исследуемого материала
3.	Провести предметное стекло через пламя спиртовки (стерилизация). Рабочая поверхность стекла должна быть обращена к пламени	Стерильное предметное стекло
4.	Взять пробирку с физраствором в левую руку, бактериальную петлю – в правую. Стерильно извлечь из пробирки петлю физраствора	Бактериальная петля с физиологическим раствором
5.	Нанести на стекло петлю физиологического раствора	На стекле должна остаться большая капля
6.	Прокалить бактериальную петлю (фламбирование)	Стерильная петля
7.	Взять пробирку с культурой (выращенной на скошенном агаре) в левую руку, бактериальную петлю – в правую. Стерильно извлечь из пробирки неполную петлю микробной массы	Петля с бактериальной культурой
8.	Внести в каплю физраствора на стекле петлю с микробной массой	На предметном стекле – физраствор и микробная масса
9.	Эмульгировать бактерии в капле физраствора на стекле	На стекле однородная мутная взвесь микробной массы
10.	Распределить полученную взвесь равномерным тонким слоем на поверхности стекла площадью с десятикопеечную монету	Препарат-мазок из исследуемого материала
11.	Фламбировать петлю	Стерильная петля
12.	Высушить препарат на воздухе или над пламенем горелки	Высушенный препарат-мазок, готовый для фиксации

Операции		Состояние объекта
13.	Зафиксировать препарат – провести 3 раза через верхнюю часть пламени спиртовки (мазок должен быть сверху)	Фиксированный неокрашенный препарат из исследуемого материала
14.	Окрасить фиксированный препарат водным фуксином 1–2 мин или метиленовым синим 3–5 мин	Препарат-мазок фиолетового или синего цвета
15.	Промыть препарат водой	Препарат-мазок промыт
16.	Высушить препарат на воздухе или с помощью фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов к микроскопированию
17.	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой	В препарате бактерии разной формы и размера окрашены одинаково
18.	Занести результаты в протокол <i>Позитивный метод окраски</i>	
	<i>фуксином</i>	<i>метиленовым синим</i>
		Результаты проверяются и подписываются преподавателем

### Микроскопирование мазков с использованием иммерсионной системы и светового микроскопа

Операции		Состояние объекта
1.	Подготовить микроскоп для работы: поднять конденсор вверх до упора предметного столика; полностью открыть диафрагму микроскопа; поставить плоское (при естественном освещении) или вогнутое (при искусственном освещении) зеркало	Микроскоп готов к работе
2.	Осветить поле зрения под контролем объектива $\times 8$	Поле зрения освещено правильно
3.	Нанести на готовый препарат-мазок маленькую каплю иммерсионного масла	Препарат-мазок с иммерсионной средой
4.	Положить препарат на столик микроскопа и закрепить его; поставить иммерсионный объектив $\times 90$ (с черной полосой)	Препарат-мазок готов к микроскопии

Операции		Состояние объекта
5.	Опустить медленно микровинтом объектив до соприкосновения с маслом и немного погрузить в него	Микроскоп готов к работе с иммерсионной системой
6.	Поднять тубус макровинтом до появления объекта. <i>Опускать объектив макровинтом, глядя в окуляр, нельзя!</i>	Объект – в поле зрения
7.	Достичь четкости изображения с помощью микровинта с возможной подстройкой одним оборотом в ту или иную сторону	Четкое изображение объекта. Результаты зарисовать и подписать у преподавателя

### Вопросы для самоконтроля:

1. Предмет и задачи медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. Историческое единство развития трёх наук. Открытия А. Левенгука, Л. Пастера, Р. Коха.

2. Систематика микробов. Принципы систематики. Понятия «вид», «штамм», «культура», «клон», «популяция». Современные приёмы систематики – рестрикционный анализ, типирование ДНК и 16S-рибосомальной РНК.

3. Устройство и оптические характеристики микроскопа. Схема темнопольного конденсора и фазово-контрастного устройства.

4. Основные морфологические группы и размеры бактерий. Основные признаки прокариотической клетки.

5. Морфология спирохет, грибов, риккетсий.

6. Способы приготовления нативных и фиксированных препаратов. Окраска простыми способами.

### Ситуационные задачи:

*I. В нативном препарате обнаружены бактерии шаровидной формы.*

1) Назовите микроорганизмы, увиденные при микроскопировании.

2) От чего зависит их расположение в препарате?

*II. В исследуемом материале от больного с подозрением на пневмонию обнаружены диплококки ланцетовидной формы.*

Назовите микроорганизмы, увиденные при микроскопировании.

*III. В препарате-мазке обнаружены извитые микроорганизмы.*

1) Как определить их подвижность?

2) Как установить размеры микроорганизмов?

*IV. В препарате-мазке больного с заболеванием легких обнаружено большое количество нитевидных ветвистых микроорганизмов и мелких овальных телец.*

1) Как определить их тинкториальные свойства?

2) К какой группе микроорганизмов их отнести?

## **Занятие 2. МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ**

Одним из них важнейший микроскопических методов изучения структуры бактериальной клетки является способ Грама, позволяющий подразделять мир бактерий на две группы: грамположительные и грамотрицательные. Способ Ожешки позволяет обнаружить споры бацилл. Способ Нейссера выявляет волютиновые зерна в протоплазме микробов.

**Цель** – научиться окрашивать мазки сложными способами: по Граму, Ожешки, Нейссеру.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Научиться окрашивать мазки сложными способами: по Граму, Ожешки, Нейссеру.
2. Различать две основные группы бактерий: фирмикутных и грациликнутых.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Ознакомиться с окраской по Граму (демонстрация преподавателя).
2. Приготовить препарат-мазок из смеси культур стафилококка и кишечной палочки, окрасить по Граму. Микроскопировать, зарисовать.
3. Ознакомиться с окраской по Ожешки (демонстрация преподавателя).
4. Приготовить препарат-мазок из споровой культуры сибиреязвенно-подобных бацилл, окрасить по способу Ожешки. Микроскопировать, зарисовать.
5. Ознакомиться с окраской по Нейссеру (демонстрация преподавателя).
6. Окрасить готовый препарат-мазок по способу Нейссера. Микроскопировать, зарисовать.

**Исходные знания.** Ультраструктура и химический состав бактерий.

**Основные положения.** Строение оболочки бактерий. Различия в строении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Химический состав, строение и роль капсулы и споры. Протопласты, сферопласты, L-формы бактерий и микоплазмы.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 33—36.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 54—61.

## ООД по практическому применению знаний.

### Сложные методы: окраска по Граму

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Окрасить фиксированный препарат карболово-спиртовым раствором генцианового фиолетового в течение 2 мин – положить на препарат-мазок полоску фильтровальной бумаги фиолетового цвета, смочить ее водой	Препарат-мазок с фильтровальной бумагой фиолетового цвета, смоченной водой. <i>В мазке все бактерии окрашены в фиолетовый цвет</i>
2.	Снять полоску фильтровальной бумаги с препарата через 2 мин, краситель слить. Нанести раствор Люголя на 1–2 мин	Препарат с раствором Люголя. <i>У грамположительных бактерий образовался комплекс генцианового фиолетового с йодом</i>
3.	Обработать препарат этиловым спиртом в течение 30 с (до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя)	Препарат обесцвечен. <i>У грамположительных бактерий сохраняется фиолетовый цвет, а грамотрицательные – обесцвечиваются</i>
4.	Промыть препарат водой	Препарат промыт водой
5.	Окрасить препарат водным раствором фуксина в течение 2 мин	Препарат с раствором фуксина. <i>Грамположительные бактерии – фиолетового цвета, а грамотрицательные – красного</i>
6.	Промыть препарат водой, высушить на воздухе или с помощью фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов для микроскопирования
7.	Микроскопировать препарат с иммерсионной системой. Оформить результаты	Результаты окраски мазков по методу Грама. <i>Грамположительные бактерии – фиолетового цвета, а грамотрицательные – красного.</i> Протоколы подписываются преподавателем
<b>Сложные методы: окраска спор по методу Ожешки</b>		
	Положить полоску фильтровальной бумаги на нефиксированный препарат и нанести 0,5%-ный раствор хлористоводородной кислоты	Препарат-мазок с 0,5%-ным раствором хлористоводородной кислоты

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
	Подогреть стекло в течение 3 минут в пламени спиртовки. Наблюдать за появлением паров. При появлении паров отставить препарат в сторону	Препарат подогрет до появления паров
	Снять фильтровальную бумагу, промыть препарат водой, просушить. Зафиксировать в пламени спиртовки	Препарат-мазок зафиксирован
	Окрасить по методу Циля – Нельсена. <i>Споры приобретают красный цвет, вегетативные формы – синий</i>	Препарат-мазок окрашен
	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой. Оформить результаты в протоколе	Результаты окраски спор по методу Ожешки. Подписать у преподавателя
<b>Проведение окраски зерен воллютина по методу Нейссера</b>		
	Нанести на фиксированный препарат-мазок ацетат синьки Нейссера на 2–3 мин	Препарат-мазок окрашен ацетатом синьки
	Слить краску. Нанести раствор Люголя на 30 с	Препарат-мазок окрашен раствором Люголя
	Промыть препарат водой	Препарат-мазок промыт водой
	Докрасить мазок водным раствором везувина или хризоидина в течение 1 мин	Препарат-мазок докрашен везувином или хризоидином
	Промыть мазок водой, высушить на воздухе или с помощью фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов к микроскопированию
	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой.	Результаты окраски зерен воллютина по методу Нейссера. <i>Зерна воллютина – темно-синего цвета, цитоплазма бактерий – желтого</i>
	Оформить результаты в протоколе	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Ультраструктура и химический состав бактерий.
2. Строение оболочки бактерий. Различия в строении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

3. Химический состав, строение и роль капсулы и споры. Протопласты, сферопласты, L-формы бактерий.
4. Механизм и порядок окраски по Граму. Практическое значение.
5. Окраска бактерий по Цилю – Нильсену, механизм и практическое значение.
6. Окраска спор по методу Ожешки и зерен волютина по Нейссеру.
7. Особенности ультраструктуры спирохет, хламидий, микоплазм, грибов.
8. Значение микроскопического метода в диагностике заболеваний.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Какой способ окраски относится к дифференциальным?*

- 1) Окраска фуксином.
- 2) Окраска по Граму.
- 3) Окраска метиленовым синим.

*II. В нативном препарате обнаружены микроорганизмы – «палочки».*

- 1) Как определить их тинкториальные свойства и обнаружить споры?
- 2) Каков механизм и порядок окраски по Ожешки?

*III. Какой метод используют для выявления включений зерен волютина?*

- 1) Окраска по Цилю – Нельсену.
- 2) Окраска по Нейссеру.
- 3) Окраска по Романовскому – Гимзе.

*IV. При микроскопическом исследовании налета, взятого со слизистой ротовой полости больного, проходившего длительный курс антибиотикотерапии, обнаружены крупные овальные и продолговатые грамположительные микроорганизмы, расположенные одиночно и в виде коротких цепочек, имеющих дочерние особи.*

К какой группе микроорганизмов их отнести?

### **Занятие 3. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ. ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ**

Особенности обмена веществ (ассимиляция и диссимиляция) у бактерий позволяют культивировать их на искусственных жидких и плотных питательных средах. На этом основано выделение чистых культур бактерий, с их последующей идентификацией (сопоставлением с известными видами по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и антигенным признакам). Это исследование – обязательная часть микробиологической диагностики.

**Цель** – освоить методы посевов и пересевов аэробных бактерий на питательных средах, определения чистоты выделенной культуры.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с приготовлением и использованием простых и сложных питательных сред для культивирования аэробов.
2. Научиться выделять абсолютных аэробов из внешней среды.
3. Освоить методы исследования биохимических свойств бактерий.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Освоить приемы посева и пересева бактерий на плотные и жидкие питательные среды.
2. Выделить чистые культуры аэробных бактерий. Определить чистоту культуры. Зарисовывать различные виды колоний, типы роста на плотных и жидких питательных средах.
3. Познакомиться с методами обнаружения сахаролитических и протеолитических экзоферментов.
4. Определить биохимические свойства микробов с использованием сред пестрого ряда (сред Гисса).

**Исходные знания.** Физиологические свойства клеток. Свойства биологических мембран. Метаболизм клеток и организма человека.

**Основные положения.** Представления о бактериальной клетке как живой системе. Этапы бактериологического метода исследования. Питательные среды. Способы выделения и идентификации чистых культур. Способы культивирования аэробных бактерий

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 51—57.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 67—71.

**ООД по практическому применению знаний  
Выделение чистой культуры аэробных микроорганизмов**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Забрать стерильной петлей исследуемый материал	Петля заполнена исследуемым материалом
2.	Открыть чашку Петри и нанести исследуемый материал на питательную среду петлей параллельными штрихами на расстоянии 0,5 см один от другого, держа петлю плашмя	Материал равномерно распределен петлей по поверхности питательной среды
3.	Вынуть петлю из чашки, тотчас же закрыв чашку. Обжечь петлю, поставить в штатив	Чашка с посевом закрыта. Петля стерильна – поставлена в штатив
4.	Поставить чашку в термостат дном вверх на 24 ч при температуре 37°C	Чашка дном вверх поставлена в термостат, чтобы конденсат не заливал посеvy
5.	Вынуть чашку из термостата. Изучить колонии макроскопически. <i>Величина, форма, прозрачность, характер краев, структура</i>	В чашке Петри – рост культуры
6.	Наметить колонии для микроскопии карандашом по стеклу на обратной стороне чашки	Колонии отмечены
7.	Сделать из части намеченной колонии мазок, окрасить по Граму, микроскопировать	В препарате-мазке – грам-положительные или грамотрицательные бактерии
8.	Вторую часть колоний пересеять на скошенный МПА. Посевы инкубировать при температуре 37°C в течение 24 ч	Посевы в термостате
9.	Вынуть посевы из термостата, сделать препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать	Выделена чистая культура. Зарисовать. Результат подписать у преподавателя

**Определение биохимических свойств микробов  
с использованием сред пестрого ряда (сред Гисса)**

<b>Операции</b>	<b>Состояние объекта</b>
Среды Гисса (набор углеводов и высших спиртов – «пестрый ряд») – полужидкие и жидкие среды, содержащие глюкозу, лактозу, манит, мальтозу, сахарозу и индикатор на рН	

Операции		Состояние объекта
1.	Взять штатив со стерильными средами Гисса	Среды Гисса готовы к работе
2.	Взять пробирку с чистой культурой бактерий и пробирку со стерильной средой Гисса в левую руку в наклонном положении так, чтобы пробирка с культурой была первой по отношению к работающему	Пробирки правильно расположены в левой руке
3.	Взять бактериологическую петлю в правую руку, прокалить ее	Стерильная петля
4.	Вынуть пробки из пробирок одновременно, зажать их между мизинцем и ладонью	Пробирки готовы к исследованию
5.	Прокалить бактериологическую петлю, охладить, забрать петлей культуру бактерий из первой пробирки	Стерильная петля заполнена культурой бактерий
6.	Выполнить посев культуры бактерий уколом в каждую пробирку со средой Гисса (проколоть петлей столбик со средой до дна)	Пробирки со средой Гисса, засеянные исследуемой культурой
7.	Поставить пробирки с посевом в термостат на 18–24 ч	Пробирки с посевами в термостате
8.	Провести учет результатов по изменению цвета среды и наличию пузырьков газа или их отсутствию. <i>(При образовании кислоты – К и при образовании кислоты и выделении газа – Кг)</i>	Результаты определения биохимических свойств микробов фиксируются в протоколе и подписываются преподавателем

### Вопросы для самоконтроля:

1. Физиология микробов. Представления о бактериальной клетке как живой системе.
2. Химический состав бактерий. Типы и механизм питания бактерий.
3. Механизмы поступления питательных веществ в прокариотическую клетку. Механизм перемещения субстратов через цитоплазматическую мембрану.
4. Характеристика процессов роста и размножения у бактерий. Скорость и фазы развития бактериальной популяции.
5. Характеристика бактериологического метода исследования.
6. Чистые культуры и их получение. Методы выделения чистой культуры бактерий и ее идентификация.
7. Простые и сложные питательные среды. Требования к ним.

8. Этапы бактериологического метода исследования. Способы идентификации выделенной культуры.

9. Способы культивирования аэробных бактерий. Культуральные свойства бактерий.

10. Конститутивные и индуцибельные ферменты бактерий. Их значение при идентификации патогенных бактерий.

11. Методы изучения ферментативной активности бактерий.

12. Особенности метаболизма и принципы культивирования микоплазм, хламидий, риккетсий, спирохет, грибов.

**Ситуационные задачи:**

*I. В препарате-мазке видны кокки, расположенные как гроздь винограда.*

Подберите питательные среды для выделения чистой культуры.

*II. В препарате-мазке обнаружены мелкие грамтрицательные палочки.*

Как выделить чистую культуру и идентифицировать ее?

*III. От больного с диагнозом «флегмона ягодицы» доставлен гной, при посеве которого на желточно-солевом агаре выросли крупные колонии золотистого цвета с перламутровым венчиком вокруг.*

1) К каким питательным средам относится желточно-солевой агар?

2) Какой микроорганизм вырос на этой среде?

*IV. При микроскопировании гноя из уретры больного обнаружено преобладание грамположительных попарно и поодиночке расположенных кокков.*

1) О каких микроорганизмах следует думать в данном случае?

2) Подберите питательные среды для выделения чистой культуры?

*V. Что произойдет с бактериальной клеткой при изменении концентрации солей в питательной среде:*

1) лизис бактериальной клетки; 2) образование шаровидных пенистых структур; 3) образование спор; 4) образование капсул; 5) потеря подвижности.

## **Занятие 4. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ. ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ**

Бактерии обладают разнообразным набором дыхательных ферментов, в зависимости от которых по типу дыхания (освобождения энергии органических веществ) они подразделяются на абсолютные анаэробы, факультативные анаэробы и абсолютные аэробы. Знание механизма дыхания бактерий позволяет создавать оптимальные условия для культивирования абсолютных анаэробов.

**Цель** – освоить методы посевов и пересевов анаэробных бактерий на питательных средах, определения чистоты выделенной культуры.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Познакомиться с особенностями механизма дыхания бактерий, значением окислительно-восстановительного потенциала ( $rH_2$ ) среды для дыхания.
2. Ознакомиться с приготовлением и использованием питательных сред для выделения анаэробов.
3. Освоить методы посевов и пересевов анаэробных бактерий на питательных средах, определения чистоты выделенной культуры.
4. Научиться выделять абсолютных анаэробов из внешней среды.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Ознакомиться с методами культивирования анаэробов в условиях пониженного окислительно-восстановительного потенциала среды физическим, химическим и биологическим способами, а также на специальных питательных средах.
2. Освоить приемы выделения чистой культуры анаэробных бактерий.
3. Выделить анаэробы на среде Кита – Тароци.

**Исходные знания.** Физиологические свойства клеток. Свойства биологических мембран. Метаболизм клеток и организма человека.

**Основные положения.** Способы культивирования анаэробных бактерий. Особенности механизма дыхания бактерий, значение окислительно-восстановительного потенциала ( $rH_2$ ) среды для дыхания.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 62—67.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 75—81.

## ООД по практическому применению знаний

### Выделение чистой культуры анаэробных микроорганизмов

Операции		Состояние объекта
1.	Забрать стерильной бактериологической петлей исследуемый материал	Петля заполнена исследуемым материалом
2.	Выполнить посев материала в пробирку со средой Кита – Тароцци, убрав масляный затвор. <i>(Наклонить пробирку и провести петлю, минуя слой масла)</i>	Пробирка с посевом
3.	Поставить пробирки в термостат на 18–24 ч	Пробирки в термостате
4.	Учесть изменения, наступившие в среде накопления	Пробирки с ростом. <i>(Помутнение среды или помутнение и газообразование)</i>
5.	Взять выросший материал из среды Кита – Тароцци бактериальной петлей, убрав масляный затвор	Петля с культурой
6.	Выполнить посев на сахарный кровяной агар в чашки Петри петлей параллельными штрихами на расстоянии 0,5 см один от другого, держа петлю плашмя	Материал равномерно распределен петлей по поверхности питательной среды <i>(для получения изолированных колоний)</i>
7.	Поместить посевы в анаэроустат для инкубации на 18–24 ч	Чашки с посевом дном вверх поставлены в анаэроустат
8.	Приготовить препараты-мазки из части изолированной колонии, выросшей на сахарном кровяном агаре. Окрасить по Граму, микроскопировать	В препарате-мазке – грамположительные или грамотрицательные бактерии
9.	Пересеять вторую часть колонии на среду Кита – Тароцци для выделения чистой культуры, инкубировать в течение 18–24 ч	Пробирки с посевом для выделения чистой культуры в термостате
10.	Учесть результаты роста, проверить чистоту выделенной культуры. Оформить протокол	Результаты выделения чистой культуры. Протокол подписывается преподавателем

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Основные типы и сущность процессов дыхания бактерий.
2. Окислительно-восстановительный потенциал ( $\text{rH}_2$ ) среды. Какова его роль в дыхании бактерий.
3. Методы выделения чистых культур анаэробов.
4. Питательные среды для культивирования анаэробов.
5. Этапы выделения чистой культуры анаэробов.

### **Ситуационные задачи:**

*I. В лабораторию поступил материал от больного с подозрением на анаэробную раневую инфекцию.*

Подберите питательные среды для выделения чистой культуры.

*II. Больной находится на лечении с анаэробной инфекцией, вызванной клостридией перфрингенс.*

Как выделить чистую культуру возбудителя и идентифицировать ее?

*III. В препарате-мазке обнаружены грамположительные палочки с субтерминально расположенными спорами в виде теннисных ракеток, напоминающие клостридии ботулизма.*

Как выделить и идентифицировать чистую культуру возбудителя?

*IV. О чем свидетельствует изменение цвета среды с глюкозой и маннитом в ряде Гисса после выращивания в нем бактерий?*

- 1) Бактерии относятся к ферментирующим углеводы.
- 2) Бактерии относятся к не ферментирующим углеводы.

*V. Какими свойствами должна обладать питательная среда для культивирования бактерий:*

- 1) буферностью; 2) изотоничностью; 3) стерильностью.

*VI. При определении чистоты культуры анаэробных микроорганизмов в препарате обнаружены грамположительные и грамотрицательные палочки.*

- 1) Как оценить такой результат?
- 2) Как выделить и идентифицировать чистую культуру возбудителя?

## Занятие 5. МИКРОБЫ И ВНЕШНЯЯ СРЕДА

Сапрофитные микробы широко распространены в почве, воде, воздухе. Патогенные и условно-патогенные микробы, попавшие во внешнюю среду, погибают под действием физических, химических и биологических факторов. Санитарно-показательные микроорганизмы позволяют оценить микробную загрязненность воды, воздуха, пищевых продуктов и др.

**Цель** – научиться определять микробное загрязнение почвы, воды и воздуха.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с методами изучения микрофлоры почвы, воды и воздуха.
2. Уметь определить микробное число почвы, воды и воздуха.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Провести оценку микрофлоры воздуха, воды и почвы.
2. Дать оценку санитарного состояния почвы, воды и воздуха по микробиологическим показателям.

**Исходные знания.** Биосфера Земли. Биологические системы воды, почвы, воздуха.

**Основные положения.** Распространение микробов в окружающей среде. Роль микробов в круговороте веществ в природе. Микрофлора почвы, воды, воздуха, бытовых и медицинских объектов, организма животных и человека. Санитарная микробиология. Уничтожение микробов в окружающей среде. Принцип деконтаминации.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 83—87, 100—105.
2. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева и В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**Дополнительная литература:**

- Поздеев О. К. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. — М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. — 768 с.

**ООД по практическому применению знаний**  
**Санитарно-микробиологическое исследование почвы**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Приготовить взвесь почвы: 10 г почвы развести в 100 мл стерильного 0,9%-ного раствора хлористого натрия	Готовая взвесь почвы
2.	Прогреть полученную взвесь на водяной бане при 80°C в течение 15 мин	Прогретая взвесь почвы
3.	Развести прогретую взвесь почвы 0,9%-ным раствором хлористого натрия 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000	Разведенная взвесь почвы
4.	Внести по 1 мл каждого разведения в среду Кита – Тароцци и залить стерильным вазелиновым маслом	Серийно разведенная взвесь почвы в среде Кита – Тароцци
5.	Инкубировать посеvy при 37°C в течение 24–48 ч	Посевы в термостате
6.	Приготовить препараты-мазки из каждого разведения	Готовые препараты-мазки
7.	Окрасить препараты-мазки по Граму	Препараты-мазки окрашены по Граму
8.	Микроскопировать мазки с использованием иммерсионной системы	Результаты микроскопии мазков, окрашенных по Граму
9.	Учесть результаты. Данные занести в протокол. <i>Наибольшее разведение, при котором обнаружены микроорганизмы кластридий, будет титром загрязнения почвы</i>	Преподаватель проверяет и подписывает протокол полученных результатов
<b>Санитарно-микробиологическое исследование воды централизованного водоснабжения. Определение ОМЧ</b>		
ОМЧ – это общее число видимых при двукратном увеличении мезофильных (имеющих температурный оптимум 37°C аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов), которые способны образовывать колонии на питательном агаре при 37°C в течение 24 ч		
1.	Набрать пипеткой 1 мл исследуемой воды (водопроводная вода) и внести её в стерильную чашку Петри	Исследуемая вода в чашке Петри

Операции		Состояние объекта
2	Залить в чашку Петри с исследуемой водой расплавленный мясопептонный агар (МПА) температурой не выше +50°C	Исследуемая вода в чашке Петри с МПА
2.	Прикрыть чашку. После застывания агара поставить чашку в термостат при +37°C на 24 ч	Чашка с исследуемой водой и агаром в термостате
3.	Подсчитать количество выросших колоний, определить ОМЧ и занести в протокол	Результаты учтены
4.	Сравнить результат с нормативами и дать оценку качества воды (СанПин 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода»). <i>Нормативы: ОМЧ – не более 50 КОЕ/см<sup>3</sup></i>	Преподаватель проверяет и подписывает протокол полученных результатов
<b>Санитарно-микробиологическое исследование воздушной среды</b> <b>Определение ОМЧ седиментационным методом Кока*</b>		
1.	Открыть чашку Петри с мясопептонным агаром и оставить её на столе на 10 мин	Открытая чашка Петри с агаром на столе
2.	Закрыть чашку Петри по истечении времени. Поместить чашку Петри с посевами в термостат при температуре 37°C на 24 ч	Чашка с посевами в термостате
3.	Достать чашку с посевами из термостата и оставить при комнатной температуре на столе на сутки	Чашка Петри с посевами на столе
4.	Подсчитать количество выросших колоний и определить ОМЧ. <i>Исходят из классической формулы В. Л. Омелянского: на 100 см<sup>2</sup> поверхности питательной среды за 5 мин экспозиции оседает такое количество бактерий, которое содержится в 10 л воздуха (1 м<sup>3</sup> – 1000 л). На чашке с агаром не должно вырастать более 5 колоний микроорганизмов</i>	Чашки с выросшими колониями
5.	Оформить протокол	Преподаватель проверяет и подписывает протокол полученных результатов

\* Метод используют редко для ориентировочной оценки степени микробного загрязнения.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Определение, цели и задачи санитарной микробиологии. Санитарно-показательные микроорганизмы.
2. Распространение микробов в окружающей среде. Роль микробов в круговороте веществ в природе.
3. Воздушная микрофлора и патогенные микробы. Методы исследования микрофлоры воздуха. Оценка чистоты воздуха по микробному числу и содержанию санитарно-показательных микробов.
4. Почвенная микрофлора. Выживание патогенных микробов в почве. Определение микробного числа почвы. Оценка санитарного состояния почвы.
5. Микрофлора воды. Определение микробного числа, колититра воды. Оценка воды по этим показателям.
6. Микрофлора бытовых и медицинских объектов.
7. Роль внешней среды в инфекционном процессе.

### **Ситуационные задачи:**

*I. При вспышке внутрибольничной инфекции в хирургическом отделении в воздухе операционной обнаружены стафилококки.*

- 1) Как выявить источник инфекции?
- 2) Как провести эффективные противоэпидемические мероприятия?

*II. При определении микробного числа воды обнаружено 500 КОЕ/мл. Какое заключение вы сделаете о качестве воды?*

*III. Какова зона загрязнения воды, если при исследовании обнаружено большое количество разлагающих органических веществ, микробный биоценоз обилен? Ответ: «Мезосапробная зона».*

Вы согласны с ответом?

*IV. Из материала больного с пищевым отравлением, употреблявшего консервированные грибы, выделен возбудитель столбняка.*

Какими методами можно выделить из почвы чистую культуру этих микроорганизмов?

*V. При исследовании сточной воды на колифаги обнаружены «стерильные пятна».*

- 1) Чем это можно объяснить?
- 2) Как определить титр колифага?
- 3) Как оценить качество воды?

## **Занятие 6. ВЛИЯНИЕ НА МИКРОБЫ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ. ДЕЗИНФЕКЦИЯ И СТЕРИЛИЗАЦИЯ**

Внешняя среда играет определенную эпидемическую роль в распространении инфекционных болезней. Бактерии во внешней среде и в макроорганизме подвергаются действию физических, химических и биологических факторов. Знание характера и механизмов их действия позволяет использовать эти факторы для борьбы с патогенными микроорганизмами (стерилизация, дезинфекция).

**Цель** – освоить методы оценки антимикробной активности дезинфицирующих средств.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться на демонстрационных посевах с действием физических и химических факторов на бактерии.
2. Ознакомиться с основными химиотерапевтическими и дезинфицирующими веществами, их использованием.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Познакомиться с подготовкой лабораторной посуды и приборами стерилизации.
2. Поставить опыт по определению антимикробного действия антисептических и дезинфицирующих средств.

**Исходные знания.** Понятие о физических факторах повреждения клеток. Температура. Давление. Излучение.

**Основные положения.** Понятия дезинфекции и стерилизации. Физические основы и закономерности деконтаминации в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, кислотоустойчивых бактерий и спор, грибов, вирусов и прионов. Асептика и антисептика. Физические и химические факторы деконтаминации. Понятие об антисептиках и дезинфектантах. Способы стерилизации и дезинфекции в медицине. Дезинфекция высокого и низкого уровня. Аппаратура.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 93—99, 136—137.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 122—143, 231—234, 245—252.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

## ООД по практическому применению знаний

### Определить антимикробное действие антисептических и дезинфицирующих средств

Операции		Состояние объекта
1.	Внести в пробирку с суточной культурой, выращенной на скошенном МПА, 5 мл стерильного физиологического раствора и приготовить взвесь культуры	Взвесь исследуемой культуры в физиологическом растворе
2.	Нанести взвесь из пробирки в чашку Петри с МПА. Распределить равномерно взвесь по поверхности агара, покачивая чашку («посев газоном»)	Чашки Петри с равномерным распределением культуры
3.	Слить избыток жидкости с чашки в емкость с дезинфицирующим раствором. Подсушить агар в чашке в течение 1–2 мин на воздухе	Чашки Петри с культурой, подготовленные к исследованию
4.	Наложить на агар стерильным пинцетом бумажные диски, пропитанные растворами: 10%-ный хлорамин, фуксин Циля, кристаллический фиолетовый. <i>Перед наложением последующего диска пинцет стерилизуют над пламенем спиртовки</i>	Чашка Петри с бумажными дисками
5.	Чашку закрыть и поставить в термостат при температуре 37°C на 8 ч	Чашка Петри в термостате
6.	Измерить стерильную зону линейкой, накладывая ее через центр диска	Размеры стерильных зон
7.	Оценить степень чувствительности культуры по диаметру стерильной зоны вокруг диска	Оформить протокол и подписать у преподавателя

#### Вопросы для самоконтроля:

1. Действие физических и химических факторов на микробы.
2. Уничтожение микробов в окружающей среде. Дезинфектология.

Принцип деконтаминации.

3. Физические основы и закономерности деконтаминации в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, кислотоустойчивых бактерий и спор, грибов, вирусов и прионов.

4. Асептика и антисептика. Физические и химические факторы деконтаминации. Понятие об антисептиках, дезинфектантах.
5. Стерилизация. Приборы и способы стерилизации.
6. Понятие о дезинфекции. Дезинфицирующие вещества. Дезинфекция высокого и низкого уровня.
7. Особенности стерилизации и предстерилизационной обработки материалов и оборудования в клинической практике.
8. Классификация медицинских изделий и инструментов по степени эффективности деконтаминации – критические, полукритические и некритические изделия и инструменты.
9. Методы контроля эффективности стерилизации и дезинфекции.

**Ситуационные задачи:**

*I. Выберите экспозицию при дезинфекции изделий медицинского назначения кипячением в дистиллированной воде с 2%-ным двууглекислым натрием (содой):*

- 1) не менее 5 минут, 2) не менее 10 минут, 3) не менее 15 минут, 4) не менее 40 минут.

*II. Выберите экспозицию пастеризации с последующим быстрым охлаждением:*

- 1) при 100°C в течение 30 секунд, 2) при 65–95°C в течение 30 секунд – 2 минут, 3) при 35–65°C в течение 60 минут.

*III. Если средство обладает моющим и антимикробным свойствами, то:*

- 1) допускается ли совмещение дезинфекции и предстерилизационной очистки, или они должны проводиться отдельно?
- 2) данное средство может использоваться только для очистки или только для дезинфекции?

*IV. Вам необходимо простерилизовать среды Гисса.*

- 1) Какие методы и аппараты можно для этого применять?
- 2) Каков режим стерилизации?

*V. Какие аппараты используют для стерилизации:*

- 1) стеклянной посуды (чашки Петри, пипетки, флаконы и др.); 2) резиновых изделий и приборов для фильтрации жидкостей; 3) мембранных фильтров.

## **Занятие 7. НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Знание практических вопросов наследственности и изменчивости микроорганизмов дает возможность направленно изменять наследственные признаки, получать новые виды микроорганизмов с полезными свойствами. Например, изменяя биохимическую активность в определенном направлении, можно получить высокоактивные продуценты антибиотиков, витаминов, гормонов и других веществ.

Бактерии и вирусы с наследственно закрепленной сниженной вирулентностью широко используются для получения живых вакцин. Плазмиды и фаги являются инструментом – «вектором» направленного изменения наследственности.

**Цель** – освоить экспериментальные методы исследования генетической изменчивости бактерий: конъюгации и трансдукции.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Изучить основные формы изменчивости микроорганизмов.
2. Ознакомиться с вакцинами, полученными в результате направленной наследуемой изменчивости микробов.
3. Овладеть экспериментальными методами исследования генетической изменчивости бактерий: конъюгации и трансдукции.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных посевах познакомиться с S- и R-формами колоний стафилококка, O- и H-формами протей на МПА.
2. Ознакомиться с опытами по выявлению колицинов, множественной устойчивости к антибиотикам у золотистого стафилококка.
3. Поставить опыт по трансдукции и конъюгации бактерий.

**Исходные знания.** Наследственность и изменчивость организмов. Материальные основы наследственности. Генетический код. Мутации и рекомбинации.

**Основные положения.** Механизмы наследуемой и ненаследуемой изменчивости. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Модификации и мутации. Виды рекомбинативной изменчивости у бактерий. Характеристика процессов трансформации, конъюгации, трансдукции и лизогенной конверсии. Роль различных видов изменчивости в эволюции бактерий. Механизмы возникновения и распространения лекарственной устойчивости на уровне клетки и популяции. Плазмиды и их роль в устойчивости.

### Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 105—115.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 85—105, 113—122.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

## ООД по практическому применению знаний

### Опыт конъюгации

Операции	Состояние объекта
В опыте: донорский мужской штамм <i>E. coli</i> Hfr (Ti-) не растет на минимальной среде (Спицейзена) без добавления тимина. Реципиент – женский штамм <i>E. coli</i> F (Tr - и Л-) не растет на минимальной среде без добавления треонина и лейцина	
1. Приготовить смывы культур <i>E. coli</i> Hfr (Ti-) и <i>E. coli</i> F (Tr-, Л-) в физиологическом растворе в пробирках	Смывы культур в физиологическом растворе
2. Смешать по 0,5 мл взвеси каждого штамма в стерильной пробирке. Все три пробирки поставить в термостат на 15 мин	Пробирки со штаммами в термостате
3. Сделать высев петлей из каждой пробирки на сектор минимальной среды, подписав посеvy, поставить в термостат на сутки	Чашки Петри с высевом в термостате
4. Учесть результаты предыдущей группы: взвеси штаммов донора и реципиента не дают роста, смесь штаммов дает рост небольшого количества рекомбинатов. <i>В результате конъюгации появляются полностью прототрофные рекомбинаты, не нуждающиеся в тимине, треонине, лейцине, и поэтому дающие рост на минимальной среде (без добавления указанных компонентов). Это объясняется тем, что от штамма донора <i>E. coli</i> Hfr (Ti-) передаются реципиенту <i>E. coli</i> F (Tr-, Л-) гены (Tr-, Л-), а ген (Ti-) не успевает передаться, так как он расположен на другом конце хромосомы</i>	Чашки Петри с результатом. Протокол эксперимента оформить по обычной схеме, подписать у преподавателя

## Опыт трансдукции

Операции	Состояние объекта
<p>Опыт основан на способности трансдуцирующих фагов переносить фрагменты хромосомы (в нашем случае Lac<sup>+</sup> участок) клетки донора в клетку реципиента.</p> <p>Трансдуцирующий фаг от донора E. coli (Lac<sup>+</sup>) расщепляет лактозу, реципиент E. coli (Lac<sup>-</sup>) не расщепляет лактозу</p>	
1.	<p>Добавить к 1 мл бульонной культуры E. coli (Lac<sup>-</sup>) – реципиенту 1мл фага от донора E. coli (Lac<sup>+</sup>)</p> <p>Пробирка с культурой E. coli и фагом</p>
2.	<p>Пробирку поставить в термостат на 40 мин</p> <p>Пробирка в термостате</p>
3.	<p>Сделать высев на селективную среду Эндо из опытной пробирки и для контроля из пробирки с культурой реципиента</p> <p>Чашки Петри с высевом</p>
4.	<p>Поставить чашки в термостат на сутки</p> <p>Чашки Петри в термостате</p>
5.	<p>Учесть результаты предыдущей группы и запротоколировать.</p> <p><i>При высевах из опытной пробирки – рост колоний красного цвета (Lac<sup>+</sup>), из контрольной пробирки – рост колоний розового цвета (Lac<sup>-</sup>)</i></p> <p>Чашки Петри с результатом. Протокол эксперимента оформить по обычной схеме. Подписать у преподавателя</p>

### Вопросы для самоконтроля:

1. Строение бактериального генома. Особенности взаимосвязи гено-типа и фенотипа у прокариот.
2. Современные представления о механизмах репликации хромосомной ДНК у бактерий.
3. История изучения видов изменчивости у бактерий. Понятия прототроф, аукоотроф, значение при изучении изменчивости.
4. Виды изменчивости. Ненаследуемая изменчивость. Диссоциация: S-, R-, L-формы бактерий.
5. Наследуемая изменчивость. Мутации, их виды. Мутагены физические, химические, биологические.
6. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация.
7. Роль плазмид и других мобильных генетических элементов в жизнедеятельности бактерий. Плазмиды, их генетические функции. Вектор в генной инженерии.

8. Наследственность и изменчивость вирусов.
9. Роль мутаций и рекомбинаций в эволюции микроорганизмов.
10. Значение генетики в развитии общей и медицинской микробиологии.
11. Живые вакцины. Генная инженерия.
12. Принципы генетического анализа.

**Ситуационные задачи:**

*I. В инфекционном отделении у больных с диареей при анализе выделили кишечные палочки с гемолитическими свойствами.*

Чем это можно объяснить?

*II. В туберкулезном отделении у больного выделены микобактерии с множественной лекарственной устойчивостью.*

Чем это можно объяснить?

*III. В инфекционном отделении больному при поступлении поставлен клинический диагноз «дизентерия», однако при бактериологическом исследовании фекалий шигелл обнаружить не удалось.*

1) Чем это объяснить?

2) Какие бактерии могли вызвать подобное заболевание?

*IV. В остатках продуктов, послуживших источником пищевого отравления, была обнаружена грамотрицательная палочка, которая по своим свойствам не могла быть отнесена к шигеллам, сальмонеллам или эшерихиям.*

1) Какой микроорганизм мог явиться возбудителем заболевания?

2) Какое бактериологическое исследование необходимо провести?

*V. Больного пневмонией безуспешно лечили пенициллином. При бактериологическом анализе обнаружены колонии необычной формы, при микроскопии – крупные шаровидные клетки.*

Чем можно объяснить изменение культуральных и морфологических свойств бактерий при действии на них пенициллина?

## ИТОГОВЫЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ЗАНЯТИЯМ 1–7

Студентам следует отчитаться по итогам лабораторных занятий, теоретическим вопросам частной медицинской микробиологии по материалам лекционного курса, основной и дополнительной литературы.

1. Предмет и задачи медицинской микробиологии. История развития микробиологии. Основные этапы развития микробиологии и иммунологии. Работы Л. Пастера, Р. Коха, И. И. Мечникова.
2. Систематика микробов. Классификация микроорганизмов: семейство, род, вид. Варианты: биовар, хемовар, серовар. Культура, штамм, клон.
3. Морфология и ультраструктура бактерий, грибов, спирохет, риккетсий.
4. Таксономия и классификация вирусов. Морфология и анатомия вирусов. Значение открытия Д. И. Ивановского.
5. Химический состав, физико-химические свойства бактерий, окраска по Граму, по Ожешки, по Нейссеру.
6. Метаболизм бактерий. Методы выделения чистой культуры бактерий. Культуральные и биохимические свойства. Идентификация микроорганизмов.
7. Дыхание микроорганизмов. Значение окислительно-восстановительного потенциала ( $\mu\text{H}_2$ ) среды и методы его измерения. Способы культивирования анаэробов.
8. Размножение бактерий. Закономерность развития на искусственных питательных средах. Периодическое, глубинное и проточное культивирование.
9. Микрофлора почвы, воздуха и воды, методы ее исследования.
10. Действие физических и химических факторов на микроорганизмы. Стерилизация и дезинфекция. Асептика и антисептика.
11. Способы стерилизации и дезинфекции в стоматологии. Предстерилизационная обработка материалов и оборудования в стоматологической практике.
12. Строение бактериального генома. Характеристика основных форм изменчивости.
13. Ненаследуемая изменчивость. Диссоциация: S-, R-, L-формы бактерий.
14. Мутации, их виды. Мутагены физические, химические, биологические.
15. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация.

## **Занятие 8. БАКТЕРИОФАГИ: ПОЛУЧЕНИЕ, ТИТРОВАНИЕ, ПРИМЕНЕНИЕ**

Бактериофаги – вирусы бактерий. Они широко распространены в природе. Могут вызывать лизис или изменение свойств пораженных клеток. В медицинской практике фаги применяются для диагностики, профилактики и терапии инфекционных заболеваний, для индикации бактерий во внешней среде.

**Цель** – научиться проводить титрование бактериофага по методу Грациа и оценивать результаты реакции.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться со свойствами бактериофага, методами его выделения и титрования.
2. На демонстрациях ознакомиться с препаратами, содержащими бактериофаги и предназначенными для диагностики, профилактики и лечения инфекций.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Познакомиться с морфологией бактериофага.
2. Поставить опыт титрования бактериофага по методу Грациа.
3. Оценить итоги титрования фага и результаты фаготипирования.
4. Ознакомиться с препаратами: холерный бактериофаг, дизентерийный бактериофаг, стафилококковый бактериофаг – и их применением.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов, вирионов и прионов.

**Основные положения.** Бактериофаг. Понятие о вирулентных и умеренных фагах. Классификация, механизмы взаимодействия бактериофага с клеткой. Лизогения и лизогенная конверсия. Трансдукция. Понятия «профаг», «дефектный фаг». Практическое значение фагов в биологии и медицине. Генная инженерия и биотехнология.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 47—50, 79—83.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 63—64, 105—110.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**ООД по практическому применению знаний  
Титрование бактериофага по методу Грация**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Приготовить суточную бульонную культуру <i>E. coli</i>	Культура <i>E. coli</i>
2.	Подсушить чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА) в термостате	Чашки Петри с МПА
3.	Приготовить десятикратное разведение исследуемого фага ( $10^{-2}$ – $10^{-7}$ ) в физиологическом растворе	Бактериофаг разведен до $10^{-7}$
4.	Растопить на водяной бане полужидкий (0,7%) МПА, охладить до 45°C	Полужидкий МПА готов для внесения смеси
5.	Смешать 0,5 мл последнего разведения фага ( $10^{-7}$ ) с 0,5 мл бульонной культуры <i>E. coli</i> и внести в пробирку с полужидким агаром. <i>Так же готовится смесь из следующих разведений фага</i>	Смесь фага и культуры <i>E. coli</i> с полужидким агаром
6.	Вылить смесь на поверхность агара в чашке Петри	Чашки Петри со вторым слоем из смеси фага, культуры <i>E. coli</i> и полужидкого агара. <i>(Первый слой – МПА)</i>
7.	После застывания второго слоя чашки подписать и поставить в термостат при 37°C на 18–24 ч	Чашки подписаны и дном вверх поставлены в термостат
8.	Учесть результаты роста ( <i>подсчитать на сплошном бактериальном газоне «стерильные пятна» или негативные колонии фага</i> )	Чашки с ростом культуры <i>E. coli</i> и негативными колониями фага
9.	Определить активность (титр фага). <i>Титр фага выражают максимальным разведением, в котором проявляется литическое действие</i>	Результаты титрования бактериофага по методу Грация. Результаты проверяются и подписываются преподавателем

## Фаготипирование стафилококка

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить испытуемую суточную бульонную культуру стафилококка	Культура стафилококка
2.	Подсушить чашки Петри с МПА в термостате	Чашки Петри с МПА
3.	Засеять культуру на поверхность МПА	Чашки с посевом
4.	Разделить восковым карандашом чашку Петри на квадраты	Чашка готова для нанесения фага
5.	Нанести пастеровской пипеткой по одной капле типоспецифических фагов в каждый квадрат. Термостатировать 24 ч при температуре +37°C	Чашки в термостате.
6.	Учесть результаты роста ( <i>отметить квадраты, в которых имеется лизис</i> )	Чашки с ростом культуры и зонами лизиса бактерий
7.	Определить фаготип стафилококка ( <i>тип фага, который вызывает лизис</i> ). Оформить протокол	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

### Вопросы для самоконтроля:

1. Морфология и ультраструктура бактериофагов.
2. Фазы взаимодействия вирулентного и умеренного фага с бактериальной клеткой. Лизогения и конверсия фагом. Понятия «профаг», «дефектный фаг».
3. Получение и титрование бактериофага.
4. Фаготипирование и реакция нарастания титра фага.
5. Использование бактериофагов.

### Ситуационные задачи:

- I. *Студенту поставили задачу по изучению генетики бактерий. Какой вид трансдукции можно использовать для построения генетических карт бактерий?*
- II. *При исследовании сточной воды на колифаги обнаружены «стерильные пятна».*
  - 1) Чем это можно объяснить?
  - 2) Как определить титр колифага и оценить качество воды?
- III. *При обсуждении материала по бактериофагам студент ответил: «Умеренные фаги широко используются для лечения больных».*  
Прав ли студент?

## **Занятие 9. ВИРУСОСКОПИЧЕСКИЙ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ИНДИКАЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ**

Вирусы – субмикроскопические организмы неклеточной структуры. Абсолютные паразиты. Своеобразие молекулярного строения, особенности взаимоотношений с клеткой-хозяином, необычность способа размножения (репликация) представляют их как уникальное явление живой природы.

**Цель** – научиться ставить реакцию торможения гемагглютинации для идентификации вирусов.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Изучить классификацию, морфологию, анатомию, репликацию и культивирование вирусов.
2. Научиться ставить реакцию торможения гемагглютинации для идентификации вирусов.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Поставить реакцию торможения гемагглютинации для идентификации вирусов.
2. Ознакомиться с демонстрацией анатомии и онтогенеза вирусов человека и животных и зарисовать монослойную культуру клеток, пораженную (цитопатический эффект) и не пораженную вирусами.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов, вирионов и прионов.

**Основные положения.** Общая вирусология. Понятие о вирусе и вирионе. Современные принципы классификации и номенклатуры вирусов. Особенности структурной организации вирусов. Этапы взаимодействия вируса с клеткой. Понятие вирогении. Способы проникновения вируса в клетку. Особенности репродукции ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Особенности взаимодействия ретровирусов с клеткой. Способы культивирования вирусов. Вирионы и прионы, их роль в патологии. Полимеразная цепная реакция и ее применение.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 47—50, 69—79.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 63—64.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**Дополнительная литература:**

1. Лабораторная диагностика и профилактика вирусных инфекций : учеб.-метод. пособие / Е. В. Гарасько [и др.]. — Иваново, 2001. — 56 с.

2. Кузнецов О. Ю. Лабораторные реакции в микробиологии. — Иваново, 2009. — 88 с.

**ООД по практическому применению знаний**

**Реакция торможения гемагглютинации для идентификации вирусов**

Операции		Состояние объекта
<i>Реакция основана на связывании антителами сыворотки вируса, содержащего гемагглютинины, способные агглютинировать эритроциты</i>		
1.	Нанести на предметное стекло 4 капли 1%-ной взвеси эритроцитов (одна капля – контрольная)	На предметном стекле 4 капли взвеси эритроцитов
2.	Добавить в каждую каплю 1 каплю исследуемого материала	На предметном стекле 4 капли взвеси эритроцитов + исследуемый материал
3.	Внести агглютинирующие сыворотки типа А, В, С в первые три капли, перемешать	На предметном стекле 3 капли с сыворотками и 1 капля контрольная
4.	Наблюдать реакцию агглютинации через 2–3 мин. <i>Индикатором реакции являются эритроциты, агглютинирующиеся вирусом (формирование характерного зонтика) при отсутствии специфических антител, и оседающие на дно эритроциты при их наличии. При положительной РТГА образуется плотный осадок эритроцитов в виде кольца</i>	Результаты реакции торможения гемагглютинации
5.	Результаты оформить в протоколе	Протокол и подписать у преподавателя

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Понятие о вирусе и вирионе. Современные принципы классификации и номенклатуры вирусов. Криптограммы.
2. Особенности структурной организации вирусов. Вирус – существо или вещество?
3. Морфология, ультраструктура и химический состав вирусов.
4. Внутриклеточный цикл развития вирусов. Этапы взаимодействия вируса с клеткой. Понятие вирогении. Способы проникновения вируса в клетку.
5. Особенности репродукции ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Особенности взаимодействия ретровирусов с клеткой.
6. Методы культивирования вирусов на куриных эмбрионах, на трипси-низированных и перевиваемых клеточных культурах, на животных.
7. Методы обнаружения вирусов – гемагглютинация, ЦПД, РТГА, ИФА, ПЦР и др.
8. Вироиды и прионы, их роль в патологии.
9. Общая характеристика механизмов изменчивости вирусов.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Студенту поставили задачу выделить из смыва носоглотки больного вирус гриппа. Он использовал кровяной агар с целью обнаружения гемагглютинаина.*

Правильно ли поступил студент?

*II. В лабораторию был направлен смыв из носоглотки от больного ОРВИ.*

Какие методы использовали для диагностики гриппа?

*III. В лабораторию поступил материал (смыв из носоглотки) от больного с подозрением на ОРВИ.*

Какими способами можно идентифицировать вирус гриппа?

*IV. Ребенку с симптомами острого поражения верхних дыхательных путей и кишечного тракта врач поставил диагноз аденовирусной инфекции. Аналогичные случаи заболевания имеют место в детском саду, который ребенок посещает. Педиатр собрал и направил в вирусологическую лабораторию материал от больного и от других больных детей из детского сада. Получен ответ о том, что у всех обследованных выделен вирус (аденовирус, серовар 3).*

1) Из каких материалов и в какие сроки возможно выделение возбудителя?

2) На знании каких свойств аденовирусов базируется определение серовара? При каких реакциях определяются эти свойства?

## **Занятие 10. МИКРОФЛОРА ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА. ДИСБАКТЕРИОЗЫ**

Совокупность микробных биоценозов на слизистых оболочках открытых полостей и коже человека составляет его нормальную микрофлору, своеобразную защитную биопленку пограничных тканей. Заселение (колонизация) микробами организма начинается с рождения ребенка, нормальная микрофлора сопровождает человека до конца жизни. Снижение защитных сил организма, длительное применение антибиотиков и др. может привести к развитию дисбактериоза – нарушению нормального соотношения микробных видов, составляющих микробиоценоз организма. Исследование динамики (нарушения) микрофлоры входит в комплекс методов оценки неспецифической резистентности организма.

**Цель** – научиться определять состав микрофлоры кожи, слизистой щеки ротовой полости и налета зуба, микрофлоры зева здорового человека.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с составом микрофлоры кожи и слизистых здорового человека. Изучить причины дисбактериозов.
2. Научиться определять состав микрофлоры кожи, слизистой щеки ротовой полости и налета зуба, микрофлоры зева здорового человека.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. В препаратах-мазках из зубного налета (окраска по Граму) оценить состав микрофлоры.
2. На демонстрационных посевах познакомиться с методами изучения микрофлоры кожи.
3. Оценить результат посева испражнений при дисбактериозе.
4. Провести учебно-исследовательскую работу: «Изучение микрофлоры зева у студента». Оценить состав микрофлоры по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам.

**Исходные знания.** Механизмы защиты биологической индивидуальности организма. Гомеостаз.

**Основные положения.** Микрофлора организма человека и ее функции. Симбиоз и антибиоз. Микроэкология организма человека. Понятия «экологическая ниша», «биотоп». Микробиоценоз. Факторы регуляции микробиоценозов. Положительная и отрицательная роль нормальной (резидентной) микрофлоры организма. Пробиотики (эубиотики). Учение о биоплёнках. Биоплёнки и механизмы их образования. Адгезия и коагрегация бактерий. Понятие о кворум-сенсинг факторах. Роль в организме.

### Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 88—93.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 145—158, 465—471.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### ООД по практическому применению знаний

#### Выполнение забора зубного налета, приготовление и окраска препарата-мазка

Операции	Состояние объекта
<i>Забор материала необходимо проводить натощак или через 3–4 ч после приема пищи. Поверхность десен и зубов тщательно обтереть стерильным ватным тампоном</i>	
1. Изолировать десну стерильным ватным валиком	Десна изолирована
2. Забрать материал стерильным инструментом, служащим для кюретажа, осторожно чтобы не повредить эмаль	Исследуемый материал собран
3. Снять материал для исследования с инструмента для кюретажа стерильным ватным шариком	Материал собран ватным шариком
4. Поместить шарик в стерильную пробирку с транспортной средой	Материал в стерильной пробирке
5. Приготовить препарат-мазок, окрасить по Граму и микроскопировать (см. занятие 1)	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

#### Интерпретация результатов исследования на дисбактериоз и рекомендации по коррекции микрофлоры

Результаты исследования. (обсемененность КОЕ/г)	Интерпретация результатов
<i>Основная флора:</i> количество бактериоидов, бифидо- и лактобактерий – не менее $10^8$ – $10^{10}$ . <i>Сопутствующая флора:</i> количество кишечной палочки, энтерококков – не менее $10^5$ – $10^7$ .	Нормальная микрофлора здорового человека

<p><i>Остаточная флора:</i> содержание кандиды, протея, синегнойной палочки и др. – не более <math>10^4</math></p>	
<p><i>Основная флора:</i> снижение количества бактериоидов, бифидо- и лактобактерий до <math>10^8</math>–<math>10^7</math>. <i>Сопутствующая флора</i> – уменьшение количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью до <math>10^6</math>. <i>Остаточная флора</i> не изменена или содержание кандиды, протея, синегнойной палочки снижено до <math>10^3</math></p>	<p><i>I степень</i> – компенсированный дисбактериоз (ДБК). Микрофлора нарушена, клинических симптомов практически нет – изменен аппетит, имеют место метеоризм, неустойчивость стула</p>
<p><i>Основная флора:</i> количество бактериоидов, бифидо- и лактобактерий снижено до <math>10^7</math>–<math>10^6</math>. <i>Сопутствующая флора:</i> количества лактозонегативной кишечной палочки увеличено до <math>10^4</math>–<math>10^5</math>. <i>Остаточная флора:</i> содержание кандиды, протея, синегнойной палочки увеличено до <math>10^4</math>–<math>10^5</math></p>	<p><i>II степень</i> – субкомпенсированный ДБК. Умеренно выражены клинические симптомы: снижение аппетита, метеоризм, диарея или запоры, отрыжка, изжога, неопределенные боли</p>
<p><i>Основная флора:</i> количество бактериоидов, бифидо- и лактобактерий снижено до <math>10^7</math> и ниже. <i>Сопутствующая флора:</i> отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью. <i>Остаточная флора:</i> содержание кандиды, протея, синегнойной палочки увеличено до <math>10^6</math>–<math>10^7</math> и выше</p>	<p><i>III степень</i> – декомпенсированный ДБК. Усиление дисфункции кишечника: частый жидкий стул, интоксикация, падение массы тела</p>
<p><i>Основная флора:</i> отсутствие бифидобактерий. <i>Сопутствующая флора:</i> отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью. <i>Остаточная флора</i> – содержание кандиды, протея, синегнойной палочки увеличено выше <math>10^8</math></p>	<p><i>IV степень</i> – декомпенсированный ДБК. Состояние тяжелое, интоксикация, потеря массы тела, частый жидкий стул. Симптоматика со стороны других органов, возможен сепсис</p>

*Вывод: при кишечном дисбактериозе происходит снижение содержания анаэробных видов флоры и повышение – аэробных со сдвигом в остаточную флору*

Рекомендации по коррекции: при компенсированном и субкомпенсированном ДБК – назначение диеты, эубиотиков; при декомпенсированном ДБК – селективная деконтаминация (избирательное удаление аэробной флоры и грибов), назначение диеты, эубиотиков, средств, нормализующих функцию кишечника, иммуномодуляторов

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Микроэкология организма человека. Понятия «экологическая ниша», «биотоп». Микробиоценоз. Факторы регуляции микробиоценозов.
2. Положительная и отрицательная роль нормальной (резидентной) микрофлоры организма.
3. Учение о биоплёнках. Биоплёнки и механизмы их образования. Адгезия и коагрегация бактерий. Понятие о кворум-сенсинг-факторах. Их роль в организме.
4. Этапы симбиоза микробов с макроорганизмами. Факторы симбиоза, определяющие адгезию, колонизацию, инвазию, токсичность и т. п.
5. Резидентная микрофлора кожи и слизистых открытых полостей, ее роль.
6. Методы оценки нормальной микрофлоры.
7. Эпидемиологическое значение носительства условно-патогенных (патогенных) микробов в составе резидентной флоры у медицинских и др. работников.
8. Определение понятий дисбиоза и дисбактериоза. Причины дисбактериозов, диагностика, профилактика и лечение.
9. Пробиотики (эубиотики).

### **Ситуационные задачи:**

*I. При исследовании микрофлоры зева в одной из групп студентов у 50% обследуемых выделен гемолитический стрептококк.*

*Относится ли этот микроорганизм к нормальной микрофлоре зева?*

*II. У ребенка, лечившегося эритромицином, на слизистой ротовой полости появился белый налет.*

*1) Объясните причину.*

*2) Как будет продолжено лечение?*

*III. У ребенка с диареей при анализе кала обнаружено повышенное количество аэробных микроорганизмов, а бифидум- и лактобактерий – в пределах нормы.*

1) Какое заключение вы сделаете?

2) Нужна ли коррекция микрофлоры в данном случае?

*IV. Студенту задан вопрос: «Что изучает гнотобиология»? Ответ: «Генетику микроорганизмов».*

Согласны ли вы с ответом и кто эти животные – гнотобионты?

*V. У больного, ослабленного ранее перенесенным заболеванием, возникла вялотекущая форма фурункулеза.*

1) Каковы условия и возможная причина этого заболевания?

2) Как установить этиологию и какие препараты назначить?

## **Занятие 11. АНТАГОНИЗМ МИКРОБОВ И АНТИБИОТИКИ**

Эра антибиотиков позволила кардинально решить проблему лечения многих заболеваний, однако появились осложнения и побочные явления, важнейшие из которых – возрастающая резистентность возбудителей к антибиотикам. Умение определить чувствительность микробов к антибиотикам – обязательный практический навык будущего врача.

**Цель** – научиться ставить и оценивать «дисковую пробу» для определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться на демонстрационных посевах с антагонизмом микробов, с действием биологических факторов на бактерии.
2. Рассмотреть основные группы антибиотических препаратов и механизм их действия на бактерии.
3. Ознакомиться с принципами рациональной антибиотикотерапии.
4. Разобрать качественные, количественные и экспресс-методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
5. Поставить и оценить «дисковую пробу» для определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Познакомиться с методами изучения чувствительности бактерий к антибиотикам: «серийным разведением антибиотиков в питательной среде» и др. на демонстрационных посевах.
2. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом «дисковой пробы».

**Исходные знания.** Понятие о биологических факторах повреждения клеток. Антибиотики.

**Основные положения.** Понятие об антибиотиках. Классификация. Антибактериальная химиотерапия. Мишени для антибиотиков в прокариотической клетке. Бактериоцины.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 124—134.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 170—181.

**ООД по практическому применению знаний**  
**Определение чувствительности бактерий к антибиотикам**  
**методом диффузии в агаре**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Внести в пробирку с суточной культурой на скошенном МПА 5 мл стерильного физиологического раствора и приготовить взвесь культуры	Взвесь исследуемой культуры в физиологическом растворе
2.	Нанести взвесь из пробирки в чашку Петри с питательным агаром. Распределить равномерно взвесь по поверхности агара, покачивая чашку («посев газоном»)	Чашки Петри с равномерным распределением культуры
3.	Слить избыток жидкости с чашки в емкость с дезифицирующим раствором. Подсушить агар в чашке 1–2 мин на воздухе	Чашки Петри с культурой, подготовленные к исследованию
4.	Поставить чашку на бумажный трафарет, расчерченный на 8 секторов	Чашки Петри готовы к наложению дисков
5.	Наложить на агар стерильным пинцетом бумажные диски, пропитанные антибиотиком, в центр каждого сектора <i>(перед наложением последующего диска пинцет стерилизуют над пламенем спиртовки)</i>	Чашка Петри с бумажными дисками
6.	Чашку закрыть и поставить в термостат при температуре 37°C на 8 ч	Чашка Петри в термостате
7.	Измерить стерильную зону линейкой, накладывая ее через центр диска	Размеры стерильных зон
8.	Оценить степень чувствительности культуры по диаметру стерильной зоны вокруг диска <i>(10 мм – культура чувствительна, 15 мм и более – высокочувствительна, менее 10 мм – малочувствительна, отсутствие стерильной зоны – нечувствительна)</i>	Результаты оценки чувствительности культуры методом диффузии в агар. Оформить протокол и подписать у преподавателя

**Определение чувствительности бактерий к антибиотикам  
методом серийных разведений  
(определение минимальной ингибирующей концентрации)**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Приготовить раствор, содержащий определенную концентрацию антибиотика в буферном растворе (в мкг/мл или ЕД/мл)	Основной раствор антибиотика
2.	Приготовить разведения антибиотика в бульоне в пробирках в объеме 1 мл (увеличивая последующие разведения в 2 раза)	Растворы антибиотика различной концентрации в бульоне
3.	Добавить во все пробирки одинаковое количество (0,1 мл) бактериальной взвеси, содержащей около $10^7$ бактерий в 1 мл. <i>В контрольную пробирку</i> внести 1 мл бульона и 0,1 мл взвеси культуры (без антибиотика)	Пробирки с растворами антибиотика в бульоне и бактериальной взвесью
4.	Термостатировать посевы при температуре 37°C в течение 8–12 ч	Посевы в термостате
5.	Оценить результаты по помутнению питательной среды, сравнения с контролем культуры. <i>Последняя пробирка с разведением, где нет помутнения, т. е. роста культуры, и будет минимальной ингибирующей концентрацией антибиотика</i>	Результаты определения минимальной ингибирующей концентрации антибиотика. Оформить протокол и подписать преподавателем

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Понятие об антагонизме микробов, его механизмы.
2. Антибиотики различного происхождения, спектр и механизм действия на микроорганизмы.
3. Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам.
4. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

**Ситуационные задачи:**

*I. Больной хронической стафилококковой кожной инфекцией долго и безуспешно лечился пенициллином.*

- 1) Объясните причину неэффективности лечения.
- 2) Как подобрать эффективный антибиотик?

*II. Больному диабетом с кандидозной инфекцией ротовой полости назначен нистатин, который оказался неэффективным.*

- 1) Объясните причину неэффективности лечения.
- 2) Как подобрать эффективный противогрибковый препарат?

## **Занятие 12. ИНФЕКЦИЯ. ПАТОГЕННОСТЬ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ МИКРОБОВ**

Инфекционный процесс – результат взаимодействия патогенного микроорганизма с макроорганизмом. Патогенность микроба, его способность вызывать инфекционный процесс есть видовое, наследуемое свойство. Степень патогенности – вирулентность. Основные механизмы вирулентности – агрессивность, токсичность, токсигенность. Изучение отдельных факторов вирулентности возбудителя является важным этапом при микробиологической диагностике инфекций.

**Цель** – изучить правила заражения и вскрытия лабораторного животного, погибшего от инфекции, научиться исследовать микрофлору зараженных органов.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Освоить методы определения факторов агрессивности и токсигенности. Научиться выявлять отдельные ферменты агрессивности.
2. Изучить правила заражения и вскрытия лабораторного животного, погибшего от инфекции. Научиться исследовать микрофлору зараженных органов.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Вскрыть белую мышь, погибшую от стафилококковой инфекции, сделать препараты-отпечатки из органов, окрасить по Граму, микроскопировать.
2. Познакомиться с демонстрационными результатами определения факторов агрессивности: гемолизина, плазмокоагулазы, фибринолизина, лецитиназы, разобрать механизмы, ход постановки.

**Исходные знания.** Гомеостаз. Механизмы защиты биологической индивидуальности организма. Врожденный и приобретенный иммунитет.

**Основные положения.** Учение об инфекционном процессе. Понятие о патогенезе инфекционной болезни. Понятия патогенности и вирулентности. Характеристика патогенов. Сравнительная характеристика экзо- и эндотоксинов бактерий. Генетический контроль факторов патогенности у микробов.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 137—182.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 161—169.

## ООД по практическому применению знаний

### Проведение вскрытия лабораторного животного (белой мыши)

Операции	Состояние объекта
<i>Перед заражением животных отбирают, взвешивают и маркируют</i>	
1. Поместить погибшую мышь брюшком кверху в ванночку со слоем застывшего парафина на марлю, смоченную дезинфицирующим раствором. Растянуть пинцетом все 4 лапки и зафиксировать их булавками	Погибшее животное
2. Обработать кожу животного ( <i>грудь, брюшко</i> ) ватой, смоченной спиртом	Погибшая мышь готова к вскрытию
3. Разрезать кожу по средней линии живота от нижней челюсти до лобка. Сделать боковые надрезы на уровне передних и задних лап	Выполнен кожный разрез
4. Отсепаровать кожные лоскуты в стороны	Кожные лоскуты отсепарованы
5. Отметить состояние подкожной клетчатки и лимфатических узлов ( <i>величина, форма, цвет</i> ), при их увеличении сделать отпечатки-мазки и посевы	Видны нормальные или увеличенные лимфатические узлы; цвет и форма – в норме или изменены
6. Простерилизовать инструменты	Инструменты стерильны
7. Вскрыть грудную полость поперечным разрезом под мечевидным отростком ( <i>захватить пинцетом мечевидный отросток</i> ) и двумя продольными разрезами через ребра параллельно грудине. Вырезанный лоскут отложить в сторону	Грудная полость вскрыта
8. Простерилизовать инструменты	Инструменты стерильны
9. Осмотреть органы грудной полости – отметить наличие экссудата, величину, цвет, консистенцию	Видны изменения органов грудной полости, наличие экссудата
10. Разрезать перикард, обнажая поверхность сердца, отрезать верхушку сердца, сделать на предметном стекле мазок-отпечаток ( <i>взять пинцетом и прикоснуться к предметному стеклу поверхностью разреза</i> )	Отпечатки-мазки, посевы органов грудной полости

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
11.	Приготовить отпечатки-мазки и сделать посевы из ткани легких	Отпечатки-мазки, посевы из ткани легких
12.	Простерилизовать инструменты	Инструменты стерильны
13.	Вскрыть ножницами продольным разрезом брюшную полость, не задевая кишечник	Брюшная полость вскрыта
14.	Осмотреть органы брюшной полости: отметить наличие экссудата, величину, цвет и консистенцию печени, селезенки, надпочечников, мезентериальных лимфатических узлов	Видны изменения органов брюшной полости, лимфатических узлов, наличие экссудата
15.	Вырезать небольшие кусочки ткани из органов, приготовить мазки-отпечатки и сделать посевы	Мазки-отпечатки и посевы из тканей органов
16.	Залить труп животного после вскрытия дезинфицирующим раствором	Труп обеззаражен
17.	Фиксировать мазки-отпечатки смесью Никифорова и окрасить метиленовым синим	Мазки-отпечатки фиксированы и окрашены
18.	Микроскопировать препараты, используя иммерсионную систему	Результаты заражения и вскрытия белой мыши
19.	Инкубировать посевы в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч. Учесть результаты роста. Провести идентификацию выделенной культуры	Преподаватель проверяет и подписывает протокол полученных результатов

### **Определение вирулентности микроорганизмов (выявление плазмокоагулазы)**

1.	Взять пробирку с испытуемой культурой на скошенном МПА в правую руку и пробирку с 0,4 мл стерильной цитратной плазмы крови в левую руку	Пробирки с культурой и плазмой правильно расположены в левой руке
2.	Взять петлю в правую руку, как писчее перо. Прокалить петлю в пламени горелки, остудить	Стерильная петля
3.	Вынуть пробки из пробирок, забрать петлей культуру бактерий	Стерильная петля заполнена культурой бактерий
4.	Выполнить посев культуры бактерий в пробирку с плазмой ( <i>культуру растереть о стенку пробирки</i> )	Пробирка с плазмой засеяна исследуемой культурой
5.	Контрольная пробирка – плазма без культуры бактерий	Пробирка с плазмой без исследуемой культуры

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
6.	Поставить пробирки в термостат при температуре 37°C на 18–24 ч	Пробирка с посевом и контрольная – в термостате
7.	Провести учет результатов через 2–4 ч предварительно и через 18–24 ч окончательно	Результаты выявления плазмокоагулазы
8.	Оформить результаты в протоколе. <i>При выработке фермента плазмокоагулазы происходит свертывание плазмы. В контроле – она остается жидкой</i>	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Учение об инфекционном процессе. Гетерогенность человеческой популяции с точки зрения восприимчивости к инфекции.
2. Формы инфекционного процесса. Понятие о патогенезе инфекционной болезни. Характеристика патогенов, резидентов и гетеробионтов.
3. Патогенность и вирулентность микробов. Методы определения факторов вирулентности бактерий. Единицы измерения вирулентности.
4. Агрессивность, токсичность и токсигенность микробов, их генетические детерминанты. Экзотоксины и эндотоксины. Роль плазмид.
5. Патогенные свойства риккетсий, хламидий, микоплазм, грибов, простейших, вирусов. Особенности патогенеза вирусных болезней.
6. Определение понятий оппортунистическая болезнь, реинфекция, суперинфекция, микст-инфекция. Ремиссия и рецидив. Бактерионосительство.
7. Пути передачи инфекционных заболеваний. Экзогенная и эндогенная, первичная и вторичная инфекция.
8. Влияние состояния макроорганизма, внешней среды и социальных условий на возникновение и развитие инфекционного процесса.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Студенту был задан вопрос: «Как получить анатоксин»? Ответ: «На экзотоксин надо подействовать специфическими антителами».*

Согласны ли вы с ответом? С какой целью используют анатоксин?

*II. Студенту был задан вопрос: «Как получить экзотоксин возбудителя дифтерии»? Ответ: «Надо ввести в организм белой мыши культуру возбудителя».*

Согласны ли вы с ответом и каковы свойства экзотоксина?

*III. Перед студентами-кружковцами была поставлена задача: повысить вирулентность пневмококка и снизить вирулентность пневмококка.*

Как они это сделали?

## Занятие 13. МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА. ИММУНИТЕТ

Естественные неспецифические факторы защиты составляют физиологический фундамент относительной устойчивости организма к заражению. При развитии инфекционного процесса они осуществляют первую защитную реакцию организма, предоставляя ему время для выработки специфических механизмов, то есть для самообучения гомеостаза. К неспецифическим факторам защиты организма относят фагоцитоз, лизоцим, комплемент и др.

**Цель** – научиться подсчитывать фагоцитарное число, обнаруживать лизоцим, учитывать готовую реакцию титрования комплемента.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Понять механизм фагоцитоза, действие лизоцима и комплемента.
2. Научиться подсчитывать фагоцитарное число и обнаруживать лизоцим.
3. Рассмотреть результаты готовой реакции титрования комплемента, объяснить механизм.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Обнаружить лизоцим в белке куриного яйца, используя тест-бактерии *Micrococcus lysodeicticus*.
2. Подсчитать фагоцитарное число в препаратах-мазках.
3. Учесть готовую реакцию титрования комплемента, объяснить механизм.

**Исходные знания.** Иммунокомпетентные клетки, их строение, свойства и функция.

**Основные положения.** Неспецифические факторы защиты организма человека. Понятие о врождённом иммунитете. Клеточные и гуморальные факторы доиммунной защиты. Toll-рецепторы. Общая характеристика системы комплемента и пути его активации. Фагоцитоз, современные методы определения фагоцитарной активности гранулоцитов и макрофагов. Естественные киллеры и их роль в неспецифической защите организма. Факторы неспецифической противовирусной резистентности. Интерфероны, механизм действия.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 183—200.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 183—186.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### ООД по практическому применению знаний

#### Обнаружение лизоцима в белке куриного яйца

Операции		Состояние объекта
Лизоцим – фермент ацетилмурамидаза, разрушающий гликозидные связи в оболочке грамположительных бактерий. Вызывает лизис тест-культуры <i>Micrococcus lysodeicticus</i> без дополнительных факторов		
1.	Приготовить взвесь тест-культуры <i>Micrococcus lysodeicticus</i> в 0,5%-ном физиологическом растворе и разлить по 1 мл в 2 пробирки: опытную и контрольную	Пробирки опытная и контрольная
2.	Добавить в опытную пробирку 1 мл белка куриного яйца в разведении 1:400; в контрольную пробирку – 1 мл физиологического раствора. Инкубировать 15 мин при температуре 37°C	Пробирки в термостате
3.	Учет результатов – просветление раствора в опытной пробирке по сравнению с контролем. <i>Белок куриного яйца содержит лизоцим, вызывающий лизис тест-культуры Micrococcus lysodeicticus</i>	Результаты обнаружения лизоцима в белке куриного яйца
4.	Оформить протокол	Протокол подписать у преподавателя

#### Вопросы для самоконтроля:

1. История развития иммунологии. Открытия Л. Пастера, Э. Беринга, Ф. Бернета, П. Эрлиха, И. И. Мечникова и др.

2. Инструктивные и конструктивные теории иммунитета. Современные направления иммунологии.

3. Иммунитет, его виды и формы.

4. Неспецифические факторы защиты организма человека. Понятие о врождённом иммунитете.

5. Клеточные и гуморальные факторы доиммунной защиты. Toll-рецепторы.

6. Общая характеристика системы комплемента и пути его активации. Механизм действия. Метод определения титра комплемента.
7. Фагоцитоз, современные методы определения фагоцитарной активности гранулоцитов и макрофагов.
8. Завершенный и незавершенный фагоцитоз. Опсонофагоцитарная проба.
9. Опсонизация и комплементзависимый лизис бактерий.
10. Лизоцим. Механизм действия. Метод обнаружения лизоцима.
11. Бактерицидные свойства сыворотки крови.
12. Естественные киллеры и их роль в неспецифической защите организма.
13. Факторы неспецифической противовирусной резистентности. Интерфероны, механизм действия.
14. Особенности антибактериального, противовирусного, противогрибкового и других видов иммунитета. Иммунологические аспекты эмбриогенеза.

### **Ситуационные задачи:**

*I. При выполнении УИРС перед студентами поставили задачу: проверить состояние неспецифической резистентности у детей, проживающих в неблагополучных районах.*

- 1) Какие неспецифические факторы защиты определяли?
- 2) Какие методы для этого использовали?

*II. В защите от фагоцитоза, помимо поверхностных структур бактериальной клетки, участвуют секретируемые этой клеткой вещества. Назовите ферменты, принимающие участие в подавлении фагоцитоза бактерий:*

- 1) внеклеточная аденилатциклаза,
- 2) IgA-протеаза,
- 3) каталаза,
- 4) супероксиддисмутаза.

*III. Каковы причины незавершенного фагоцитоза? Ответ: «Наличие у бактерий жгутиков, микроворсинок, тейхоевой кислоты».*

Согласны ли вы с ответом?

## **Занятие 14. ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИЙ АНТИГЕНОВ С ДВУХВАЛЕНТНЫМИ АНТИТЕЛАМИ**

Знания основных сведений по механизмам реакций иммунитета важны при изучении микробиологии для понимания цели серологической диагностики инфекционных заболеваний и умения оценивать полученные результаты.

Двухвалентные антитела, соединяясь с антигеном, вызывают образование видимых макроагрегатов. Примером могут служить реакции агглютинации, преципитации, флоруляции.

**Цель** – научиться ставить и учитывать реакции агглютинации (по типу Грубера и Видаля), преципитации и флоруляции.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Научиться ставить и учитывать реакции агглютинации (по типу Грубера и Видаля).
2. Познакомиться с постановкой и учетом реакций преципитации и флоруляции.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Поставить ориентировочную реакцию агглютинации по типу Грубера с целью выявления антигенов бактерий.
2. Оценить результаты развернутой реакции агглютинации по типу Грубера.
3. Поставить реакцию агглютинации по типу Видаля с целью выявления антител.
4. Поставить реакцию преципитации с целью определения видовой принадлежности крови.
5. Объяснить механизм и учесть результат диффузной реакции флоруляции, поставленной с целью определения токсигенности бактерий.

**Исходные знания.** Гомеостаз. Механизмы защиты биологической индивидуальности организма. Факторы врожденного и приобретенного иммунитета. Строение и особенности структуры иммуноглобулинов разных классов.

**Основные положения.** Антигены. Характеристика бактериальных антигенов. Определение понятий антиген, гаптен, эпитоп, антигенная детерминанта. Серологические реакции. Механизм реакций агглютинации, преципитации.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 201—215, 283—286.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М.: Практ. медицина, 2009. — С. 189—209.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### ООД по практическому применению знаний Реакция агглютинации по типу Грубера

Операции		Состояние объекта
1.	Взять предметное стекло, разделить восковым карандашом пополам	Чистое стекло с двумя зонами
2.	Нанести на одну половину стекла каплю цельной или слегка разведенной сыворотки	На стекле – капля сыворотки
3.	Нанести на вторую половину стекла контрольную каплю физиологического раствора	На стекле – прозрачная капля физиологического раствора
4.	Внести в каждую каплю взвесь культуры бактерий простерилизованной бактериальной петлей	На стекле – капли с культурой бактерий
5.	Перемешать содержимое каждой капли простерилизованной петлей или циркулярным покачиванием стекла до образования равномерной взвеси	Образовавшиеся капли имеют мутный вид
6.	Наблюдать за появлением зерен агглютината в каплях через 3–5 мин. Сравнить полученные данные с контролем. <i>Положительная реакция – образование хорошо заметного агглютината (мелко-дисперсного осадка).</i> <i>Отрицательная – отсутствие агглютината (капля с сывороткой и взвесью бактерий выглядит аналогично контролю)</i>	Результаты реакции агглютинации по типу Грубера. Оформить протокол и подписать у преподавателя

### Реакция агглютинации на примере реакции по типу Видяля

Операции		Состояние объекта
1.	Установить в штативе ряд пробирок или взять иммунологический планшет	Чистые пробирки или чистый планшет
2.	Налить в каждую пробирку или ячейку мерно с помощью пипетки физиологический раствор по 0,5 мл. Всего должно быть 6 заполненных пробирок или ячеек	В каждой пробирке или ячейке – одинаковое количество прозрачного раствора

	<b>Операции</b>	<b>Состояние объекта</b>
3.	Внести в первую пробирку (ячейку) с помощью стерильной пипетки 0,5 мл рабочего разведения исследуемой сыворотки (готовится заранее в соотношении 1:50). Полученное содержимое в пробирке (ячейке) перемешать	В первой пробирке (ячейке) объем жидкости – 1 мл, а разведение сыворотки – 1:100
4.	Перенести той же пипеткой из первой пробирки (ячейки) во вторую и далее до 4 включительно последовательно по 0,5 мл раствора. Таким образом делают раститровку исходного разведения сыворотки от 1:100 до 1:800	Цвет раствора в каждой пробирке с увеличением титра разведения уменьшается пропорционально
5.	Приготовить контроль сыворотки. Для этого в пробирку № 5 к 0,5 мл физиологического раствора внести 0,5 мл рабочего разведения сыворотки	Контроль сыворотки
6.	Приготовить контроль диагностикума. В пробирку № 6 (ячейку) к 0,5 мл физиологического раствора внести с помощью новой стерильной пипетки 1–2 капли диагностикума	В пробирке (ячейке) наблюдается равномерное помутнение
7.	Той же пипеткой внести в каждую из подготовленных пробирок (ячеек) с раститрованной исследуемой сывороткой (пробирки № 1, 2, 3, 4) по 1–2 капли диагностикума	В пробирках (ячейках) наблюдается равномерное помутнение
8.	Поместить весь штатив с пробирками или планшет с приготовленными разведениями (раститровкой) и котролями в термостат для созревания реакции	Пробирки помещены в термостат при температуре 37°C на 18–24 ч
9.	Провести визуальную оценку результата реакции через 24 ч.	<p><i>Положительная реакция – образование хорошо заметного агглютината (мелкодисперсного осадка). Титр реакции 1:200 – 1:400.</i></p> <p><i>Отрицательная реакция: отсутствие агглютината (капля с сывороткой и взвесью бактерий выглядит аналогично контролю)</i></p>

## Реакция преципитации (кольцепреципитации)

Операции	Состояние объекта
Проводится с прозрачными коллоидными растворимыми антигенами, экстрагированными из патологического материала и чистых культур бактерий. Ставится в преципитационных (узких) пробирках (диаметр – 0,5 см)	
1. Внести 0,2–0,3 мл преципитирующей сыворотки в пробирку	Пробирка с преципитирующей сывороткой
2. Наслоить на сыворотку 0,–0,2 мл антигена пастеровской пипеткой медленно, по стенке, держа пробирку в наклонном положении	Пробирка с преципитирующей сывороткой и антигеном
3. Перевести пробирку в вертикальное положение. Зафиксировать результат через 1–2 мин	Появляется преципитат в виде белого кольца на границе между сывороткой и исследуемым антигеном при положительной реакции
4. Результаты реакции преципитации оформить в протоколе	Протокол подписать у преподавателя

### Вопросы для самоконтроля:

1. Антигены и их свойства.
2. Характеристика бактериальных антигенов. Определение понятий «антиген», «гаптен», «эпитоп», «антигенная детерминанта».
3. Антигенная структура грамположительных и грамотрицательных бактерий и вирусов.
4. Механизм взаимодействия антигенов с антителами.
5. Серологические реакции. Механизм реакций агглютинации по типу Грубера и Видаля.
6. Агглютинирующие сыворотки, получение, титрование, применение.
7. Диагностикумы, получение, применение.
8. Реакция преципитации. Реакция флокуляции.
9. Получение и назначение антиоксических сывороток. Биологическая реакция нейтрализации Шика.

### Ситуационные задачи:

1. Студенту задан вопрос: «Как и с какой целью ставится реакция непрямой гемагглютинации»? Ответ: «Берем кровь больного и добавляем известный антиген. Происходит агглютинация».

1) Согласны ли вы с ответом?

2) В чем отличие реакций прямой гемагглютинации от непрямой?

*II. Студенту задан вопрос: «С какой целью ставится реакция гемолиза»? Ответ: «Для обнаружения антител».*

Согласны ли вы с ответом?

*III. Ребенку, контактирующему с больным дифтерией, поставлена проба Шика. Через 72 часа на месте введения экзотоксина появились покраснение и припухлость.*

1) С какой целью поставлена эта проба?

2) Каков механизм биологической реакции нейтрализации?

*IV. От больного ребенка с подозрением на колиэнтерит были выделены типичные кишечные палочки, которые не агглютинировались никакими типоспецифическими сыворотками.*

1) В каком случае может наблюдаться подобная ситуация?

2) Какие дополнительные исследования следует провести?

## **Занятие 15. ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИЙ АНТИГЕНОВ С ОДНОВАЛЕНТНЫМИ АНТИТЕЛАМИ**

Одновалентные антитела при соединении с антигеном видимых макроагрегатов не образуют. Для обнаружения такого комплекса «антиген – одновалентное антитело» приходится применять косвенные «индикаторные» способы: реакцию связывания комплемента (РСК) или реакцию Кумбса.

**Цель** – научиться учитывать реакции связывания комплемента и Кумбса.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Освоить учет реакции связывания комплемента.
2. Познакомиться с постановкой и учетом реакции Кумбса.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Рассмотреть постановку и зафиксировать результаты РСК.
2. Рассмотреть постановку реакции Кумбса и зафиксировать результат.

**Исходные знания.** Гомеостаз. Механизмы защиты биологической индивидуальности организма. Факторы врожденного и приобретенного иммунитета. Строение и особенности структуры иммуноглобулинов разных классов.

**Основные положения.** Серологические реакции. Механизм реакций лизиса, связывания комплемента, Кумбса. Получение иммунных сывороток. Современные приёмы серодиагностики и сероидентификации. Иммунофлюоресцентный, иммуноферментный и радиоиммунный анализ.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 288—293.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 194—197.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### **ООД по практическому применению знаний Реакция связывания комплемента**

<b>Операции</b>	<b>Состояние объекта</b>
РСК проводят для серодиагностики и сероидентификации. В ней используют две конкурирующие системы антиген и антитело и один комплемент. Первую систему называют исследуемой, вторую – индикаторной, или гемолитической	

1.	<b>1-й этап.</b> Приготовить двухкратное разведение испытуемой сыворотки (инактивированной при температуре 56°C в течение 30 мин)	Пробирка с двухкратным разведением инактивированной сыворотки
2.	Внести 0,5 мл сыворотки в пробирку, добавить 0,5 мл антигена и 0,5 мл компонента в рабочей дозе	Пробирка с исследуемой системой
3.	Встряхнуть. Термостатировать при температуре 37°C в течение одного часа	Пробирка в термостате
4.	<b>2-й этап.</b> Добавить в пробирку 1 мл гемолитической системы. Встряхнуть. Термостатировать при температуре 37°C в течение 30 мин – 1 ч	Пробирка с исследуемой и гемолитической системой
5.	Оценить результат по наличию или отсутствию гемолиза	<i>Реакция положительная при полной задержке гемолиза, когда жидкость в пробирке бесцветна и эритроциты оседают на дно. Реакция отрицательная при полном лизисе эритроцитов, когда жидкость интенсивно окрашена – «лаковая кровь»)</i>
6.	Контроль к основному опыту: 1) контроль сыворотки без антигена; 2) контроль антигена без сыворотки; 3) реакция с заведомо положительной сывороткой; 4) реакция с заведомо отрицательной сывороткой; 5) контроль компонента; 6) контроль гемолитической системы	Наличие или отсутствие гемолиза в контрольных системах. Оформить протокол, подписать у преподавателя
<b>Реакция Кумбса</b>		
Реакцию Кумбса проводят для обнаружения неполных антител, например, к резус-антигену эритроцитов. Для выявления комплекса антиген – антитело используют дополнительную тест-систему		
<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	<b>1-й этап.</b> Приготовить в пробирке двухкратное разведение испытуемой сыворотки	Пробирка с двухкратным разведением сыворотки
2.	Добавить в пробирку эритроциты, содержащие резус-антиген. Термостатировать при температуре 37°C в течение 1 ч	Пробирка с исследуемой системой в термостате

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
3.	<b>2-й этап.</b> Добавить в пробирку кроличью античеловеческую антиглобулиновую сыворотку (АГС) в рабочем разведении. Инкубировать при температуре 37°C в течение 30 мин	Пробирка с исследуемой системой и АГС в термостате
4.	Оценить результат по наличию гемагглютинации ( <i>положительная реакция</i> )	Наличие или отсутствие гемолиза в основном опыте
5.	Контроли к основному опыту: 1) АГС + сенсibilизированные специфическими антителами эритроциты; 2) АГС + обработанные нормальной сывороткой эритроциты; 3) АГС + обработанные исследуемой сывороткой резус-отрицательные эритроциты	Наличие или отсутствие гемолиза в контрольных системах
6.	Оформить протокол	Протокол подписать у преподавателя

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Реакции с одновалентными антителами: РСК, лизиса, Кумбса. Получение иммунных сывороток.
2. Серологический метод диагностики инфекционных болезней, его цели.
3. Современные приёмы серодиагностики и серодетификации.
4. Реакция иммунофлюоресценции.
5. Иммуноферментный анализ.
6. Радиоиммунный метод.

#### **Ситуационные задачи:**

*I. Студенту задан вопрос: «Назовите компоненты, необходимые для постановки РСК»? Ответ: «Комплемент, гемолитическая сыворотка, эритроциты».*

- 1) Согласны ли вы с этим ответом?
- 2) Компоненты, техника и механизм реакции.

*II. У больного хронический бруцеллез? Для постановки диагноза была поставлена непрямая реакция Кумбса.*

- 1) Что хотел узнать лечащий врач?
- 2) Компоненты, техника и механизм реакции.

## **Занятие 16. ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ. ОСНОВЫ ИММУНОТЕРАПИИ И ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ**

Биопрепараты применяются на всех звеньях эпидемической цепи с целью диагностики, профилактики и лечения.

**Цель** – научиться использовать биопрепараты для диагностики, профилактики и лечения.

На занятии студентам предстоит решить следующую **задачу** – познакомиться с биопрепаратами, применяемыми для профилактики, лечения, диагностики инфекций, с их получением, требованиями к ним, использованием, механизмом действия.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах ознакомиться с биопрепаратами.
2. Изучить Национальный календарь профилактических прививок.

**Исходные знания.** Механизмы защиты биологической индивидуальности организма. Строение и особенности структуры иммуноглобулинов, разных классов.

**Основные положения.** Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция. Иммуностропные препараты. Вакцины и их виды. Анатоксины. Адьюванты. Иммунобиологические препараты, содержащие антитела. Иммуномодулирующая терапия и иммуномодуляторы. Другие виды биопрепаратов: бактериофаги, пробиотики (эубиотики) – и их применение в медицине.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во», 2008. — С. 294—307.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 212—225.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

## Национальный календарь профилактических прививок

(приложение к приказу Минздравсоцразвития России № 51н от 31.01.2011 г.  
«Об утверждении Национального календаря профилактических прививок  
и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям»)

Возраст	Наименование прививки	
Новорожденные (в первые 24 часа жизни) перед прививкой БЦЖ	Гепатит В	Первая вакцинация
Новорожденные (3–7 дней жизни)	Туберкулез	Вакцинация
1 месяц	Гепатит В	Вторая вакцинация
2 месяца	Гепатит В	Третья вакцинация
3 месяца	Дифтерия, коклюш, столбняк	Первая вакцинация
3 месяца	Полиомиелит	Первая вакцинация
3 месяца	Гемофильная инфекция	Первая вакцинация
4,5 месяца	Дифтерия, коклюш, столбняк	Вторая вакцинация
4,5 месяца	Полиомиелит	Вторая вакцинация
4,5 месяца	Гемофильная инфекция	Вторая вакцинация
6 месяцев	Дифтерия, коклюш, столбняк	Третья вакцинация
6 месяцев	Полиомиелит	Третья вакцинация
6 месяцев	Гепатит В	Третья вакцинация
6 месяцев	Гемофильная инфекция	Третья вакцинация
12 месяцев	Гепатит В	Четвертая вакцинация
12 месяцев	Корь, краснуха, паротит	Вакцинация
18 месяцев	Дифтерия, коклюш, столбняк	Первая ревакцинация
18 месяцев	Полиомиелит	Первая ревакцинация
18 месяцев	Гемофильная инфекция	Ревакцинация
20 месяцев	Полиомиелит	Вторая ревакцинация
6 лет	Корь, краснуха, паротит	Ревакцинация
6–7 лет	Дифтерия, столбняк	Вторая ревакцинация
7 лет	Туберкулез	Ревакцинация
14 лет	Дифтерия, столбняк	Третья ревакцинация
14 лет	Туберкулез	Ревакцинация
14 лет	Полиомиелит	Третья ревакцинация
Взрослые от 18 лет	Дифтерия, столбняк	Ревакцинация

Возраст	Наименование прививки	
Дети от 1 года до 18 лет и девушки от 18 до 25 лет	Краснуха	–
Дети от 15 до 17 лет включительно	Корь	–
Дети с 6 месяцев, учащиеся 1–11 классов	Грипп	Ежегодно

*Вакцинация* бывает как однократной (корь, паротит, туберкулез), так и многократной (полиомиелит, АКДС). Кратность говорит о том, сколько раз необходимо получить вакцину для образования иммунитета.

*Ревакцинация* направлена на поддержание иммунитета, выработанного предыдущими вакцинациями. Обычно проводится через несколько лет после вакцинации.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Иммунодиагностика, иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция.
2. Приготовление и использование диагностикумов, агглютинирующих, преципитирующих, люминесцентных сывороток.
3. Иммуностропные препараты.
4. Вакцины и их виды. Требования к ним. Использование. Календарь прививок. Показания и противопоказания к вакцинации. Оценка поствакцинального иммунитета.
5. Организация прививок населению. Препараты для активной и пассивной иммунизации. Осложнения иммунизации и их предотвращение.
6. Иммунобиологические препараты, содержащие антитела. Иммуноглобулины. Антитоксические сыворотки. Требования к ним. Назначение. Анатоксины. Адъюванты. Побочные действия серотерапии и их профилактика. Работы А. Безредки.
7. Получение и использование аллергенов. Механизм медленной аллергической реакции.
8. Иммуномодулирующая терапия и иммуномодуляторы.
9. Другие виды биопрепаратов: бактериофаги, пробиотики (эубиотики) – и их применение в медицине. Получение и использование фагов. Препараты из микробов-антагонистов.

## **ИТОГОВЫЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ЗАНЯТИЯМ 8–16**

1. Бактериофаги. Взаимодействие фага с бактериальной клеткой. Умеренные и вирулентные бактериофаги. Лизогения.
2. Применение фагов в биотехнологии, микробиологии и медицине.
3. Структура и химический состав вирусов. Методы их культивирования.
4. Действие биологических факторов на микроорганизмы. Микробы-антагонисты, их использование в производстве антибиотиков.
5. Открытие пенициллина А. Флемингом. Получение отечественного пенициллина З. В. Ермольевой. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.
6. Механизм действия антибиотиков на микроорганизмы. Побочное действие антибиотиков. Принципы рациональной антибиотикотерапии.
7. Микрофлора организма человека и ее функции. Симбиоз и антибиоз.
8. Определение понятий «дисбиоз», «дисбактериоз». Препараты для восстановления нормальной микрофлоры.
9. Учение об инфекционном процессе. Условия возникновения инфекционного процесса. Формы инфекции. Стадии развития и признаки инфекционной болезни.
10. Понятия патогенности и вирулентности. Факторы патогенности.
11. Сравнительная характеристика экзо- и эндотоксинов бактерий. Получение анатоксинов.
12. Виды иммунитета. Особенности противовирусного, противогрибкового иммунитета.
13. Неспецифические факторы защиты организма: кожные, слизистые и лимфатические барьеры. Фагоцитоз. Лизоцим.
14. Комплемент, его роль, структура, функции, пути активации.
15. Интерфероны, природа. Способы получения и применения.
16. Антигены: определение, свойства. Антигены бактерий, грибов, вирусов.
17. Реакции иммунитета: агглютинации, преципитации, связывания комплемента, Кумбса. Компоненты, механизм, способы постановки. Применение.
18. Реакция иммунофлюоресценции. Иммуноферментный анализ, иммуноблоттинг. Механизм, компоненты, применение.
19. Диагностикумы. Моноклональные антитела. Агглютинирующие и адсорбированные сыворотки. Получение, применение.
20. Вакцины. Определение. Классификация. Требования, предъявляемые к вакцинным препаратам. Иммунные сыворотки. Применение.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ПО ОБЩЕЙ МИКРОБИОЛОГИИ

- 1. К микроорганизмам с эукариотным типом организации клетки относятся**
  - 1) стафилококки
  - 2) клостридии
  - 3) стрептококки
  - 4) дрожжеподобные грибы р. *Candida*
- 2. Эндоспоры образуют**
  - 1) *Escherichia coli*
  - 2) *Streptococcus pyogenes*
  - 3) *Clostridium tetani*
  - 4) *Campylobacter fetus*
- 3. К извитым формам микроорганизмов относятся**
  - 1) *Bordetella pertussis*
  - 2) *Proteus vulgaris*
  - 3) *Treponema pallidum*
  - 4) *Shigella sonnei*
- 4. Кокковыми формами микроорганизмов являются**
  - 1) *Neisseria meningitidis*
  - 2) *Shigella sonnei*
  - 3) *Bacteroides fragilis*
  - 4) *Proteus vulgaris*
- 5. К грамотрицательным бактериям относятся**
  - 1) энтерококки
  - 2) коринебактерии
  - 3) бациллы
  - 4) псевдомонады
- 6. К спорообразующим бактериям относятся**
  - 1) стрептококки
  - 2) клостридии
  - 3) нейссерии
  - 4) сальмонеллы
  - 5) коринебактерии
- 7. Темнопольная микроскопия применяется для изучения**
  - 1) кишечной палочки
  - 2) бледной трепонемы
  - 3) стафилококка
  - 4) хламидий
- 8. Облигатными анаэробами являются**
  - 1) бациллы
  - 2) клостридии
  - 3) стафилококки
  - 4) энтеробактерии

- 9. Биотерапевтические препараты, используемые для коррекции микрофлоры, включают**
- 1) стафилококки
  - 2) лактобактерии
  - 3) клебсиеллы
  - 4) псевдомонады
- 10. Свойства, характерные для бактериальных экзотоксинов**
- 1) специфичность действия
  - 2) термостабильность
  - 3) невозможность перехода в анатоксин
  - 4) липополисахаридная химическая природа
- 11. Назовите микроорганизмы, вырабатывающие нейротоксин:**
- 1) *C. diphtheriae*
  - 2) *C. tetani*
  - 3) *V. cholerae*
  - 4) *S. aureus*
- 12. Бактериологический метод диагностики применяется для**
- 1) обнаружения антител в сыворотке больного
  - 2) выделения и идентификации бактерий-возбудителей заболеваний
  - 3) выявления антигена в исследуемом материале
  - 4) выделения и идентификации вирусов – возбудителей заболеваний
- 13. Человек является источником инфекции при**
- 1) сифилисе
  - 2) легионеллезе
  - 3) бруцеллезе
  - 4) туляремии
- 14. Развитие диарей связано с действием**
- 1) ботулинического токсина
  - 2) дифтерийного токсина
  - 3) термолабильного энтеротоксина
  - 4) столбнячного токсина
  - 5)  $\beta$ -гемолизина
- 15. Метод стерилизации сыворотки крови:**
- 1) стерилизация воздействием ионизирующей радиации
  - 2) стерилизация паром под давлением
  - 3) стерилизация сухим жаром
  - 4) фильтрование с помощью мембранных фильтров
  - 5) стерилизация УФ-облучением
- 16. При лечении бактериальных инфекций антибиотиками могут возникнуть следующие осложнения:**
- 1) амебиаз
  - 2) кандидамикоз
  - 3) токсоплазмоз
  - 4) дифилоботриоз

**17. Жизненно важные структуры бактериальной клетки, являющиеся мишенями для антибиотиков**

- 1) нуклеоид
- 2) капсула
- 3) митохондрии
- 4) жгутики

**18. Основным механизмом молекулярного действия аминогликозидов на бактериальную клетку является**

- 1) ингибирование синтеза клеточной стенки
- 2) ингибирование синтеза белка
- 3) ингибирование синтеза ДНК
- 4) нарушение функционирования цитоплазматической мембраны

**19. Основным механизмом молекулярного действия бета-лактамовых антибиотиков на бактериальную клетку является**

- 1) ингибирование синтеза клеточной стенки
- 2) ингибирование синтеза белка
- 3) ингибирование синтеза ДНК
- 4) нарушение функционирования цитоплазматической мембраны

**20. Ингибирование синтеза ДНК в клетках бактерий характерно для**

- 1) пенициллина
- 2) нистатина
- 3) ципрофлоксацина
- 4) эритромицина

**21. Ученый, первым разработавший метод аттенуации для получения живых вакцин, это**

- 1) Р. Кох
- 2) Э. Дженнер
- 3) П. Эрлих
- 4) Л. Пастер

**22. Вакцинными препаратами являются**

- 1) БЦЖ
- 2) лактобактерин
- 3) стафилококковый бактериофаг
- 4) иммуноглобулин нормальный человеческий

**23. Живыми вакцинами являются**

- 1) лактобактерин
- 2) полиомиелитная пероральная вакцина
- 3) вакцина гепатита А «ГЕП-А-инВАК»
- 4) вакцина гепатита В рекомбинантная

**24. Вакцина БЦЖ относится к типу**

- 1) живых аттенуированных
- 2) инактивированных корпускулярных
- 3) химических
- 4) генноинженерных

- 25. Менингококковая вакцина относится к типу**
- 1) живых аттенуированных
  - 2) инактивированных корпускулярных
  - 3) химических
  - 4) генноинженерных
- 26. Иммунобиологические препараты для создания активного искусственного иммунитета**
- 1) иммунные сыворотки
  - 2) препараты иммуноглобулинов
  - 3) вакцины
  - 4) адьюванты
- 27. Совокупность микроорганизмов, отличающихся по антигенным свойствам**
- 1) морфовары
  - 2) серовары
  - 3) фаговары
  - 4) биовары
  - 5) хемовары
- 28. К серологическим реакциям относятся**
- 1) реакция связывания комплемента (РСК)
  - 2) полимеразно-цепная реакция (ПЦР)
  - 3) вирусная гемагглютинация (РГА)
  - 4) ДНК-ДНК-гибридизация
- 29. Антитоксический иммунитет вырабатывается в организме при**
- 1) брюшном тифе
  - 2) дифтерии
  - 3) гриппе
  - 4) кори
- 30. Пассивный антитоксический иммунитет развивается при введении в организм следующих препаратов**
- 1) бифидумбактерина
  - 2) противодифтерийной сыворотки
  - 3) АДС-М
  - 4) вакцины менингококковой полисахаридной групп А и С
- 31. Лечебными антитоксическими сыворотками являются**
- 1) противостолбнячная
  - 2) противогриппозная
  - 3) противогуляремийная
  - 4) противолептоспирозная
- 32. Сущность научного открытия Д. И. Ивановского**
- 1) создание первого микроскопа
  - 2) открытие вирусов
  - 3) открытие явления фагоцитоза
  - 4) получение антирабической вакцины

**33. К вирусным инфекциям относятся**

- 1) дифтерия
- 2) клещевой энцефалит
- 3) эпидемический сыпной тиф
- 4) коклюш

**34. В состав вирионов сложных вирусов входят следующие структурные компоненты**

- 1) рибосомы
- 2) ядро
- 3) один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК)
- 4) жгутики

**35. Вирусы культивируют**

- 1) в организме восприимчивых животных
- 2) на элективных питательных средах
- 3) в анаэроэте
- 4) в инкубаторе

**36. Для диагностики вирусных инфекций применяют методы**

- 1) тинкториальный
- 2) вирусологический
- 3) микологический
- 4) бактериологический

**37. Антропонозными вирусными инфекциями являются**

- 1) клещевой энцефалит
- 2) корь
- 3) бешенство
- 4) геморрагическая лихорадка

**38. Характерные признаки вирусов**

- 1) размножаются на питательных средах
- 2) размножаются дисъюнктивным способом
- 3) имеют клеточную стенку
- 4) содержит РНК и ДНК

**39. Патогенность микроба – это признак**

- 1) генотипический
- 2) фенотипический
- 3) быстро изменяющийся под влиянием факторов окружающей среды
- 4) тинкториальный

**40. Вирулентность микроба – это признак**

- 1) морфологический
- 2) фенотипический
- 3) присущий семейству микробов
- 4) возникший в процессе эволюции паразитизма

**41. Развитие псевдомембранозного колита на фоне антибиотикотерапии вызывает**

- 1) *Clostridium perfringens*
- 2) *Clostridium difficile*
- 3) *Clostridium septicum*
- 4) *Clostridium histolyticum*

**42. Основной механизм молекулярного действия хинолонов**

- 1) ингибирование синтеза клеточной стенки
- 2) ингибирование синтеза белка на уровне 50S субъединицы рибосомы
- 3) ингибирование синтеза белка на уровне 30S субъединицы рибосомы
- 4) ингибирование синтеза ДНК

**43. Ингибирование синтеза клеточной стенки характерно для**

- 1) ампициллина
- 2) ципрофлоксацина
- 3) нистатина
- 4) гентамицина

**44. Обязательная плановая вакцинация проводится для профилактики**

- 1) гриппа
- 2) холеры
- 3) дифтерии
- 4) брюшного тифа

**45. Энтеротоксин продуцируется бактерией**

- 1) *Vibrio cholerae*
- 2) *Corynebacterium diphtheriae*
- 3) *Salmonella typhi*
- 4) *Bacillus anthracis*

**46. Ботулинический токсин по механизму действия на клетку-мишень является**

- 1) эксфолиативным токсином
- 2) ингибитором синтеза белка
- 3) активатором аденилатциклазной системы
- 4) блокатором передачи нервного импульса

**47. Дифтерийный токсин является**

- 1) гистотоксином
- 2) нейротоксином
- 3) энтеротоксином
- 4) эндотоксином

**48. Комплемент участвует в серологических реакциях**

- 1) преципитации
- 2) агглютинации
- 3) РСК
- 4) иммунофлюоресценции

**49. Для проведения бактериологического метода диагностики используют**

- 1) лабораторных животных
- 2) питательные среды
- 3) куриные эмбрионы
- 4) культуры клеток

**50. В качестве исследуемого материала для серологической диагностики (определение титра антител) используют**

- 1) гной
- 2) мокроту
- 3) мочу
- 4) сыворотку крови

**Ответы:**

**1 – 4), 2 – 3), 3 – 3), 4 – 1), 5 – 4), 6 – 2), 7 – 2), 8 – 2), 9 – 2), 10 – 1), 11 – 2), 12 – 2), 13 – 1), 14 – 3), 15 – 4), 16 – 2), 17 – 1), 18 – 2), 19 – 1), 20 – 3), 21 – 4), 22 – 1), 23 – 2), 24 – 1), 25 – 3), 26 – 3), 27 – 2), 28 – 1), 29 – 2), 30 – 2), 31 – 1), 32 – 2), 33 – 2), 34 – 3), 35 – 1), 36 – 2), 37 – 2), 38 – 2), 39 – 1), 40 – 2), 41 – 2), 42 – 4), 43 – 1), 44 – 3), 45 – 1), 46 – 4), 47 – 1), 48 – 3), 49 – 2), 50 – 4).**

# ЧАСТНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

## Занятие 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ (СТАФИЛОКОККИ)

Стафилококковые инфекции занимают ведущее место среди внутрибольничных инфекций (ВБИ), местных и общих гнойных заболеваний.

**Цель** – научиться выделять чистую культуру стафилококка, идентифицировать, определять вирулентность и чувствительность к антибиотикам.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями морфологических, культуральных и биологических свойств стафилококков, обратив особое внимание на механизмы вирулентности и устойчивость стафилококков к антибиотикам.
2. Рассмотреть отличия стафилококков от других (грамположительные) кокков, этиопатогенез заболеваний, принципы взятия и доставки исследуемого материала в лабораторию, ход микробиологической диагностики.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться с биологическими свойствами стафилококков.
2. Провести микробиологическое исследование гноя и определение чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам.
3. Определить вирулентность микроорганизмов (наличие плазмокоагулазы).

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Грамположительные кокки (стафилококки).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 328—335.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 255—259.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

## ООД по практическому применению знаний

### Микробиологическое исследование гноя и определение чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам

Операции	Состояние объекта
<b>Взятие материала из раны проводят с помощью стерильного тампона или зонда-тампона</b>	
1. Обработать кожу вокруг раны тампоном, смоченным 70%-ным этиловым спиртом или другим антисептиком	Кожа продезинфицирована
2. Удалить с поверхности раны некротические массы, детрит, гной стерильной салфеткой	Верхний слой с раны удален
3. Собрать материал круговыми вращательными движениями от центра к периферии пораженного участка, плотно прижимая тампоны к поверхности раны. <i>Во время забора материала не касаются тканей, окружающих рану, чтобы не забрать дополнительную микрофлору</i>	Тампоны с материалом
4. Поместить тампоны с материалом в стерильные пробирки с транспортной средой (для аэробов и для анаэробов)	Материал в пробирках с транспортной средой
5. Доставить материал в лабораторию с сопроводительным документом ( <i>ф., и., о. больного, время забора материала, предполагаемый диагноз</i> )	Исследуемый материал готов к доставке в лабораторию
<b>Бактериологическое исследование гнойного отделяемого при стафилококковой инфекции</b>	
1. 1-й день. Приготовить мазок из исследуемого материала, окрасить по Граму, микроскопировать. Провести посев на чашки Петри с желточно-солевым агаром. Инкубировать посевы в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
2. 2-й день. Учет результатов – рост непрозрачных колоний белого или золотисто-желтого цвета. Приготовить из 1/2 колонии препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять 1/2 колонии на скошенный МПА. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
3.	3-й день. Учет результатов посева. Проверить чистоту выделенной культуры. Выполнить посев на среды для биохимической идентификации, выявления плазмокоагулазы, фаготипирования, антибиотикограммы. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
4.	4-й день. Учет результатов биохимических тестов. Провести внутривидовую дифференциацию стафилококков с помощью типовых бактериофагов	Результаты идентификации стафилококков. Оформить протокол, подписать у преподавателя

### Определение вирулентности микроорганизмов (выявление плазмокоагулазы)

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Взять пробирку с испытуемой культурой на скошенном МПА и пробирку с 0,4 мл стерильной цитратной плазмы крови в левую руку	Пробирки с культурой и плазмой правильно расположены в левой руке
2.	Взять петлю в правую руку, как писчее перо. Прокалить петлю в пламени горелки, остудить	Стерильная петля
3.	Вынуть пробки из пробирок, забрать петлей культуру бактерий	Стерильная петля заполнена культурой бактерий
4.	Выполнить посев культуры бактерий в пробирку с плазмой ( <i>культуру растереть о стенку пробирки</i> )	Пробирка с плазмой засеяна исследуемой культурой
5.	Контрольная пробирка – плазма без культуры бактерий	Пробирка с плазмой без исследуемой культуры
6.	Поставить пробирки в термостат при температуре 37°C на 18–24 ч	Пробирка с посевом и контрольная – в термостате
7.	Провести учет результатов через 2–4 ч предварительно и через 18–24 ч окончательно	Результаты выявления плазмокоагулазы
8.	Оформить результаты в протоколе. <i>При выработке фермента плазмакоагулазы происходит свертывание плазмы. В контроле она остается жидкой</i>	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Таксономия и классификация стафилококков. Морфология, тинкториальные и культуральные свойства.
2. Типы роста на плотных и жидких питательных средах. Что характерно для биохимических (ферментативных) свойств стафилококка?
3. Механизмы вирулентности. Характеристика токсинов и ферментов патогенности.
4. Фаготипирование стафилококка. Какой практический интерес представляют стафилококки 1-й и 2-й фагогруппы?
5. Устойчивость к физическим (высушивание, воздействие УФ-лучей, высокая температура), химическим (дезинфицирующие средства, сульфаниламидные препараты) и биологическим (антибиотики) факторам.
6. Патогенез стафилококковых инфекций. Особенности иммунитета, его механизмы, напряженность, продолжительность.
7. Этапы микробиологической диагностики ВБИ стафилококковой этиологии. Каково преимущество желточно-солевого агара перед другими питательными средами?
8. Препараты для специфической профилактики и терапии. Как готовится, как и с какой целью применяется стафилококковый анатоксин?

### **Ситуационные задачи:**

*I. У больного после плановой операции из отделяемого послеоперационной раны выделена культура стафилококка.*

- 1) Можно ли считать данный микроб возбудителем нагноения, осложнившего заживление раны? Как это проверить?
- 2) Как выбрать антибиотики для лечения?

*II. Больной обратился к врачу с жалобами на внезапный подъем температуры тела, озноб, головную боль. До этого на пальце развился панариций, который он лечил домашними средствами.*

- 1) Какие микробиологические исследования следует провести для постановки диагноза? Какова тактика лечения?
- 2) Какие антибиотики необходимо назначить больному?

*III. Больной с хронической стафилококковой инфекцией, которая осложнилась стафилококковым сепсисом, долго и безуспешно лечился различными антибиотиками и сульфаниламидами.*

- 1) Почему данное лечение оказалось неэффективным? Как это проверить?
- 2) Какие препараты можно рекомендовать для лечения и как их выбрать?

*IV. В детском отделении родильного дома выявлены случаи гнойничковых поражений кожи у новорожденных.*

- 1) Какие микробиологические исследования необходимо провести для выяснения причины этих поражений и установления источника инфекции?
- 2) Как установить идентичность культур стафилококков, выделенных из разных источников?

## **Занятие 2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ (СТРЕПТОКОККИ, ПНЕВМОКОККИ, ЭНТЕРОКОККИ, МЕНИНГОКОККИ, ГОНОКОККИ)**

Стрептококки, уступив первенство стафилококкам в этиологии ВБИ и общих гнойных инфекций, имеют возрастающее значение в развитии инфекционно-аллергических заболеваний человека: острых и хронических тонзиллитов, ревматизма, рожистого воспаления, а также скарлатины, гнойных заболеваний слизистых оболочек.

**Цель** – научиться выделять культуру стрептококка из организма больного, идентифицировать, определять вирулентность, доказывать этиологическую роль заболевания.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями морфологических, культуральных и биологических свойств стрептококков, энтерококков и пневмококков, менингококков, гонококков в чистых культурах, обратив особое внимание на антигенное строение стрептококков, наличие специфических аллергенных комплексов, механизмы их вирулентности, принципы классификации по Ленсфильд и Гриффитсу.

2. Рассмотреть этиопатогенез инфекционно-аллергических стрептококковых заболеваний и особенности забора материала для исследования на стрептококк.

3. Ознакомиться с особенностями микробиологической и серологической диагностики заболеваний, вызываемых менингококками и гонококками.

4. Научиться характеризовать основные препараты, применяемые для специфической профилактики и лечения кокковых инфекций, объяснять особенности их применения и механизм действия.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Провести микробиологическое исследование слизи из зева с целью выделения и идентификации стрептококков.

2. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться со свойствами стрептококков, энтерококков и пневмококков.

3. Ознакомиться с результатами реакции связывания комплемента, поставленной с целью диагностики хронической гонореи.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Грамположительные и грамотрицательные кокки (стрепто-, энтеро-, пептострептококки, нейссерии, моракселлы, веллонеллы).

### Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 335—350.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 265—268.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### ООД по практическому применению знаний

#### Микробиологическое исследование слюны из зева с целью выделения и идентификации стрептококков

Операции		Состояние объекта
<b>Пробы для бактериологического исследования при инфекции верхних дыхательных путей (слизистой глотки)</b>		
1.	Забор материала необходимо проводить натошак или через 3–4 ч после приема пищи	
2.	Прижать язык стерильным шпателем при широко открытой полости рта	Язык фиксирован шпателем
3.	Забрать материал тампоном с задней стенки глотки на уровне язычка ( <i>при фарингитах</i> ) или поочередно с правой миндалины и правой небной дуги и левой миндалины и левой небной дуги ( <i>при тонзиллитах</i> ). Тампон не должен касаться языка и слизистой оболочки полости рта	Материал собран тампоном
4.	Поместить тампон в стерильную или одноразовую пробирку с транспортной средой	Материал в стерильной пробирке
5.	Доставить материал в лабораторию с сопроводительным документом ( <i>ф., и., о. больного, время забора материала, предполагаемый диагноз</i> )	Исследуемый материал готов к доставке в лабораторию

Операции	Состояние объекта
<b>Бактериологическое исследование слизи при стрептококковой инфекции</b>	
1. 1-й день. Приготовить мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Провести посев материала на чашки Петри с кровяным агаром и в пробирки с сахарным бульоном. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
2. 2-й день. Учет результатов – рост мелких точечных колоний серовато-белого цвета с зоной гемолиза. На жидкой питательной среде – помутнение и гомогенный осадок. Приготовить из 1/2 колонии и из бульона препараты-мазки, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять 1/2 колонии на скошенный сахарный МПА. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
3. 3-й день. Учет результатов посева. Проверить чистоту выделенной культуры. Выполнить посев на среды для биохимической идентификации. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
4. 4-й день. Учет результатов биохимических тестов. Провести серологическую идентификацию стрептококков	Результаты идентификации стрептококков. Оформить протокол, подписать у преподавателя

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Таксономия и классификация стрептококков. Особенности классификаций, предложенных Ленсфильд и Гриффитсом?
2. Морфологические и культуральные свойства стрептококков. Плотные и жидкие питательные среды для их выделения. В чем их преимущество?
3. Факторы агрессивности стрептококков. Характеристика токсинов и ферментов патогенности. Особенности скарлатинозного токсина.
4. Патогенез стрептококковых инфекций: остро и хронического тонзиллита, ревматизма, скарлатины, гнойного воспаления. Особенности иммунитета.
5. Методы микробиологической диагностики стрептококковых инфекций. Какой материал и как вы возьмете для исследования.

6. Морфологические и культуральные свойства пневмококков и энтерококков. Классификация. Факторы патогенности. Микробиологическая диагностика.

7. Возбудители гонореи и менингококковой инфекции. Проявления гонореи на слизистой полости рта.

**Ситуационные задачи:**

*I. У ребенка при гнойничковом поражении кожи в препаратах-мазках обнаружены грамположительные кокки, располагающиеся цепочками, парно и отдельными клетками.*

1) О каком возбудителе можно думать? Какие среды взять для микробиологической диагностики?

2) Как доказать этиологическое значение микроорганизмов и подобрать antimicrobные препараты для лечения?

*II. Вследствие небольшой травмы (ссадины) на ноге у больного возникло рожистое воспаление. Из анамнеза выяснилось, что он страдает хроническим тонзиллитом.*

1) На основании каких микробиологических данных можно установить связь между рожистым воспалением и носительством стрептококка в зеве?

2) Какие дополнительные исследования нужно провести?

3) Как подобрать антибактериальные препараты для лечения?

*III. Больного с первичной атакой ревматизма госпитализировали для обследования с целью выявления первичного очага.*

1) Какие бактериоскопические исследования должны быть проведены?

2) Какими методами можно оценить степень специфичности стрептококковой сенсibilизации и аутосенсibilизации?

*IV. При бактериоскопическом исследовании препаратов-мазков из мокроты больного с клиническим диагнозом «пневмония» обнаружены грамположительные кокки.*

1) Надо ли провести дополнительные микробиологические исследования для подтверждения этиологии заболевания?

2) С помощью какого метода можно надежнее выделить чистую культуру возбудителя при подозрении на пневмококковую этиологию заболевания? Как доказать, что это пневмококк?

3) Какие антибиотики следует назначить для лечения в том случае, если возбудителем данного заболевания окажется пневмококк?

*V. У больного ребенка с клиническими симптомами менингита в мазке из зева были обнаружены грамотрицательные диплококки.*

1) Можно ли на основании этих данных утверждать, что возбудителем заболевания является менингококк?

2) Какие другие микроорганизмы могли вызвать менингит?

3) Какие дополнительные исследования необходимо провести, чтобы установить возбудителя болезни?

### **Занятие 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ (ПРОТЕЙ, КЛЕБСИЕЛЛЫ, СЕРРАЦИИ, ПСЕВДОМОНАС, АКИНЕТОБАКТЕРИИ, МОРАКСЕЛЛЫ, ЛЕГИОНЕЛЛЫ, КАМПИЛОБАКТЕР)**

Внутрибольничные инфекции детей и взрослых все чаще вызываются грамотрицательными бактериями. Приобретя различные факторы вирулентности, устойчивые к действию факторов внешней среды, резистентные к антибиотикам и сульфаниламидным препаратам, они представляют большую опасность для ослабленных детей, взрослых и престарелых людей.

Педиатрические аспекты: к грамотрицательным бактериям – возбудителям ВБИ – чувствительны дети (недоношенные и с различными аномалиями иммунитета). ВБИ, вызванные грамотрицательными бактериями, чрезвычайно опасными для этого контингента детей, нередко приводят к смерти.

**Цель** – научиться проводить лабораторную диагностику ВБИ, вызванных грамотрицательными бактериями, и доказывать их этиологическую роль, проводить микробиологические исследования хирургического инструментария для обнаружения зараженности его условно-патогенными грамотрицательными бактериями.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться на демонстрационных препаратах и посевах с морфологическими и культуральными свойствами грамотрицательных бактерий – возбудителей ВБИ: протеем, клебсиеллой, серрацией, псевдомонас, неферментирующими акинетобактериями и моракселлами, кампилобактером и легионеллами.

2. Понять этиопатогенез, особенности лабораторной диагностики, профилактики и лечения ВБИ, вызванных этими микроорганизмами.

3. Научиться проводить лабораторную диагностику ВБИ, доказать этиологическую роль в ней выделенных грамотрицательных бактерий.

4. Научиться проводить микробиологические исследования хирургического инструментария с целью обнаружения зараженности его условно-патогенными грамотрицательными бактериями.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться со свойствами возбудителей ВБИ: протеем, клебсиелл, серраций, псевдомонас, акинетобактерий и моракселл, кампилобактера и легионеллы пневмонии.

2. Провести микробиологическое исследование гноя из очага поражения с целью доказательства этиологической роли выделенных грамотрицательных бактерий. Обнаружение капсул по методу Бури – Гинса.

3. Провести микробиологические исследования хирургического инструментария на заражение грамотрицательными возбудителями ВБИ.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Грамотрицательные факультативно-анаэробные и аэробные палочки (энтеробактерии, псевдомонады, легионеллы, вибрионы).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 360—361, 369, 399—401, 403—407, 410—412, 484—486.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 358—368.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**Дополнительная литература:**

Тележникова Н. Д., Тартаковский И. С. Легионеллезная инфекция. — М. : Медицина, 2007. — 264 с.

**ООД по практическому применению знаний  
Бактериологическое исследование  
при инфицировании грамотрицательными бактериями**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	1-й день. Приготовить мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Провести посев материала на чашки Петри со средой Эндо. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы исследуемого материала на среду Эндо в термостате
2.	2-й день. Учет результатов роста (размер, форма, цвет, консистенция, поверхность, край колоний). Приготовить из 1/2 изолированной колонии препараты-мазки, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять 1/2 колонии на скошенный МПА. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы на скошенном МПА в термостате
3.	3-й день. Учет результатов посева. Проверить чистоту выделенной культуры. Выполнить посев на среды Гисса для биохимической идентификации. Инкубировать 24 ч при 37°C	Посевы на среды Гисса в термостате
4.	4-й день. Учет результатов биохимических тестов. Провести серологическую идентификацию выделенной культуры	Оформить протокол, подписать у преподавателя

## Обнаружение капсул по методу Бури – Гинса

Операции		Состояние объекта
1.	Нанести на предметное стекло каплю физиологического раствора. Внести бактериальной петлей микробную массу, снятую с питательной среды	На предметном стекле однородная мутная взвесь микробной массы
2.	Внести каплю туши в полученную взвесь микробов. Смешать их. При помощи стекла со шлифованным краем приготовить мазок (так же, как мазок крови)	Тушевый препарат-мазок
3.	Мазок высушить и зафиксировать	Препарат-мазок зафиксирован
4.	Нанести на препарат-мазок водный раствор фуксина на 1–2 мин	Препарат-мазок окрашен
5.	Промыть мазок водой, высушить на воздухе или с помощью фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов к микрокопированию
6.	Микрокопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой. <i>Бактерии окрашены в красный цвет, капсулы не окрашены, контрастно выделяются на черно-розовом фоне</i>	Результаты окраски капсул по методу Бури – Гинса
7.	Оформить результаты в протоколе	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

### Вопросы для самоконтроля:

1. Морфологические, культуральные и биологические свойства протей. Роль в возникновении ВБИ. Микробиологическая диагностика.

2. Клебсиеллы. Их роль в развитии патологии. Характеристика клебсиелл пневмонии, озены и риносклеромы. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия.

3. Отличительные признаки «чудесной» палочки, особенности её выделения и идентификации.

4. Синегнойная палочка. Биологические свойства. Факторы патогенности. Роль в возникновении ВБИ. Лабораторная диагностика. Этиотропная терапия.

5. Морфологические, культуральные и биологические свойства акинетобактерий и моракселл? В чем их различие? Микробиологическая диагностика больничных инфекций, вызванных ими?

6. Какие поражения вызывают кампилобактер и легионеллы у ослабленных и пожилых людей? Особенности лабораторной диагностики ВБИ, вызванных кампилобактером и легионеллами?

**Ситуационные задачи:**

*I. Из раневого отделяемого больного при бактериологическом исследовании выделены культуры стафилококка и грамотрицательных бактерий.*

1) Как установить их роль в этиологии заболевания?

2) На основании каких данных можно назначить рациональное лечение?

*II. У больного после операции на органах брюшной полости появились симптомы разлитого перитонита.*

1) Какие бактерии могли вызвать данное заболевание?

2) Какие исследования нужно провести для их выделения, идентификации и доказательства этиологической роли?

3) Какие препараты следует использовать для лечения? Как их выбрать?

*III. В чистом хирургическом отделении больницы у послеоперационного больного появилось нагноение раны со специфическим сладковатым запахом.*

1) Каковы возможные причины этого осложнения?

2) Какие материалы подлежат микробиологическому исследованию? Как выделить возбудителя?

3) На основании каких данных могут быть проведены профилактические мероприятия и в чем они заключаются?

*IV. В детском отделении после инъекций лекарственного препарата у двух больных появились абсцессы, из гноя выделены клебсиеллы.*

1) Где и как искать источник инфекции?

2) Какие меры необходимы для предотвращения подобных случаев?

*V. В чистом хирургическом отделении появились случаи гнойной послеоперационной инфекции. Из ран больных и со «стерильных» инструментов, используемых при перевязках, выделены палочки сине-зеленого гноя.*

1) Где и как искать источник инфекции?

2) Как доказать идентичность штаммов, выделенных от больных и с инструментов?

3) Какие меры следует предпринять для профилактики этой инфекции?

## **Занятие 4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ**

При ВБИ широкое применение антибиотических и гормональных препаратов привело к возникновению осложнений типа дисбактериозов и микозов. Часто встречается кандидоз, вызванный дрожжеподобными грибами. Реже – микозы, вызванные нитчатыми грибами: пенициллом, аспергиллом и мукором.

Педиатрические аспекты: у новорожденных может иметь место первичный кандидоз в виде молочницы. Заражение грибами происходит при прохождении ребенка через родовые пути матери, а также от окружающих предметов. При наличии у ребенка молочницы в сочетании с другой бактериальной инфекцией антибиотики необходимо применять с большой осторожностью, комбинируя их с витаминами, нистатином или леворином.

**Цель** – научиться выделять культуру белой кандиды из организма больного.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими и культуральными свойствами дрожжеподобных грибов кандиды, с морфологией нитчатых грибов.
2. Понять этиопатогенез кандидозов, усвоить методы лабораторной диагностики и профилактики микозов.
3. Научиться выделять культуру белой кандиды из организма больного.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться со свойствами кандиды и нитчатых грибов.
2. Провести микробиологическую диагностику кандидоза.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Мицелиальные и дрожжеподобные грибы – возбудители внутрибольничных инфекций.

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 634—639.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 60—61, 436—439.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### Дополнительная литература:

1. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Грибковые инфекции. — М. : БИНОМ, 2008. — 480 с.
2. Лабораторная диагностика и профилактика микозов : учеб.-метод. пособие / Е. В. Гарасько [и др.]. — Иваново : ИвГМА, 2002. — 68 с.

### ООД по практическому применению знаний

#### Проведение микробиологической диагностики кандидоза

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить препарат-мазок из исследуемого материала. Провести прямую микроскопию	Прямая микроскопия нативного препарата
2.	Выполнить посев в чашки Петри на среду Сабуро для выделения грибов. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы на среду Сабуро – в термостате
3.	Учесть результаты роста (колонии блестящие, кремово-белые). Из 1/2 колонии приготовить препарат-мазок	Чашки с колониями грибов
4.	Окрасить препарат-мазок фуксином или метиленовым синим. Микроскопировать	В препарате – мелкие дрожжевые клетки
5.	Пересеять 1/2 колонии на скошенный сахарный МПА. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы – в термостате
6.	Учесть результаты роста. Проверить чистоту выделенной культуры ( <i>мелкие овальные почкующиеся клетки с псевдогифами</i> )	Выделена культура дрожжеподобных грибов
7.	Выполнить посев выделенной культуры для изучения ее биохимической активности	Посевы на биохимическую активность – в термостате
8.	Учесть результаты ( <i>уреазной активностью не обладают, нитраты не утилизируют</i> ). Оформить протокол	Протокол подписать у преподавателя

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Дрожжеподобные грибы рода кандиды. Морфологические и культуральные свойства. Экология. Роль в патологии человека.
2. Факторы, способствующие возникновению кандидоза (дисбактериоз, иммунодефициты). Патогенез кандидоза.
3. Лабораторная диагностика, профилактика и лечение кандидоза.
4. Возбудители плесневых микозов – аспергиллеза, пенициллиоза, зигомикозов. Морфология нитчатых грибов. Экология. Патогенез заболеваний, вызванных этими грибами.
5. Лабораторная диагностика, профилактика, лечение плесневых микозов.

### **Ситуационные задачи:**

*I. У больного пневмонией, принимающего эритромицин в течение 7 дней, на слизистой оболочке ротовой полости появились грязно-серые налеты.*

- 1) Какова возможная причина появления налетов на слизистой?
- 2) Какими исследованиями можно это подтвердить?
- 3) Какие лекарственные препараты следует использовать для лечения?

*II. У ребенка на слизистой щек и десен неожиданно появились белесые налеты. Ребенок беспокоится, плачет.*

- 1) Что могло послужить причиной заболевания?
- 2) Как поставить диагноз поражения?
- 3) Какие меры необходимо принять для лечения?

*III. У больного тяжелой очаговой пневмонией в препаратах-мазках из мокроты обнаружены длинные септированные нити.*

- 1) Как подтвердить этиологию пневмонии?
- 2) Как подобрать препараты для лечения больного?

*IV. Через 7 дней после начала лучевой терапии по поводу опухоли молочной железы у больной появились жалобы на сухость во рту, кровоточивость десен, боль при приеме пищи. При осмотре – слизистые оболочки полости рта гиперемированные, покрыты серым налетом.*

- 1) Какова возможная причина появления налетов на слизистой?
- 2) Какими исследованиями можно это подтвердить?
- 3) Какие лекарственные препараты следует использовать для лечения?

## **Занятие 5. ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ДИСБАКТЕРИОЗЫ**

Возбудители ВБИ циркулируют во внешней среде, в медицинских учреждениях и на пограничных тканях (кожа, слизистые оболочки) здоровых и больных людей. Этим определяются особенности лабораторной диагностики и профилактики ВБИ.

*Дисбактериоз* развивается чаще всего как следствие заболеваний, протекающих с поражением кишечника (острая и хроническая дизентерия, сальмонеллез, кишечные гельминтозы, хронические колиты и энтероколиты и др.). При ВБИ назначение антибиотиков, химиотерапевтических средств и другие воздействия также создают условия для формирования дисбактериоза.

*Педиатрические аспекты:* у новорожденных дисбактериоз кишечника может быть следствием недоношенности, раннего перевода на искусственное вскармливание, а также патологии матери (токсикоз беременности, мастит и др.). Особенно тяжелые дисбактериозы возникают у детей с гнойно-инфекционными заболеваниями (сепсис, пневмония, пиодермия, отиты и др.).

**Цель** – научиться определять этиологически значимый ассоциант в гное от больного по подсчету КОЕ/мл патологического субстрата и проводить микробиологическую диагностику дисбактериоза кишечника.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями лабораторной диагностики ВБИ (микроскопическими, микробиологическими, серологическими и др.).
2. Определить этиологически значимый ассоциант в гное больного по подсчету КОЕ/мл патологического субстрата.
3. Ознакомиться с особенностями профилактических мероприятий в лечебных учреждениях по всем звеньям эпидемической цепи.
4. Понять этиологию, патогенез, методы диагностики, профилактики и лечения нарушений микроэкологии кишечника.
5. Провести микробиологическую диагностику дисбактериоза кишечника.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться с основными и вспомогательными способами диагностики ВБИ.
2. Провести микробиологическую диагностику гнойно-септической ВБИ, определить этиологически значимый ассоциант по подсчету КОЕ/мл патологического субстрата (гноя).
3. Провести микробиологическую диагностику дисбактериоза кишечника.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Понятия «внутрибольничная инфекция», «оппортунистическая инфекция». Этиология, патогенез и особенности клинической картины оппортунистических болезней. Диагностика оппортунистических болезней и дисбиозов.

**ООД по практическому применению знаний  
Определение этиологически значимого ассоцианта  
по подсчету КОЕ/мл субстрата**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Приготовить препарат-мазок из исследуемого материала, окрасить по Граму, микроскопировать	Препарат микроскопирован (грамположительные, грамотрицательные бактерии)
2.	Приготовить разведения исследуемого материала до $10^{-4}$ стерильным физиологическим раствором; сделать посев из разведений $10^{-2}$ и $10^{-4}$ на чашки Петри со средами: ЖСА, кровяной агар, Эндо и Сабуро. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Чашки Петри с посевами исследуемого материала в термостате
3.	Подсчитать колонии каждого типа на всех средах и пересчитать КОЕ/мл исследуемого материала. Окрасить по Граму, микроскопировать и произвести отсев колоний (количество которых 1000 и более на 1 мл) на скошенный МПА для выделения чистой культуры. Инкубировать посеvy в течение 24 ч при температуре 37°C	Определены доминирующая и субдоминирующая популяции в микробной ассоциации. Пробирки с посевами на скошенный МПА в термостате
4.	Проверить чистоту выделенной культуры, провести идентификацию чистой культуры, определить факторы вирулентности и чувствительность к антибиотикам и антисептикам. Инкубировать посеvy в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы на определение факторов вирулентности и чувствительности к антибиотикам в термостате
5.	Учесть результаты посевов, реакций. Оформить заключение: род и вид выделенных микроорганизмов, КОЕ/мл исследуемого материала, чувствительность к антибиотикам. Оформить результат	Определен этиологически значимый ассоциант по подсчету КОЕ/мл субстрата. Протокол подписать у преподавателя

### **Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 663—687.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 236—237, 474—482.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### **Дополнительная литература:**

1. Внутрибольничные инфекции / под ред. Р. П. Венцеля. — М. : Медицина, 2004. — 84 с.
2. Бондаренко В. М., Мацулевич Т. В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром, современное состояние проблемы. — М. : ГОЭТАР-Медиа, 2007. — 304 с.
3. Дисбактериоз кишечника : учеб.-метод. пособие / Е. В. Гарасько [и др.]. — Иваново, 2001. — 56 с.
4. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОГАР-Наука, 2008. — С. 176—191.
5. Брико Н. И., Храпунова И. А., Федорова Л. С. Контроль внутрибольничных инфекций. — М. : Русский врач, 2002. — 96 с.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Особенности проведения микробиологической диагностики ВБИ, значение вспомогательных методов.
2. Профилактика ВБИ по всем звеньям эпидемической цепи.
3. Нормальный состав кишечной микрофлоры и ее значение для организма. Понятие о дисбактериозе кишечника, его классификация. Факторы риска.
4. Диагностика и коррекция нарушений микрофлоры кишечника.
5. Дисбактериозы слизистых других полостей. Профилактика дисбактериоза.
6. Особенности профилактики и лечения оппортунистических болезней.

### **Ситуационные задачи:**

*1. Из раневого отделяемого больного при исследовании выделены культуры стрептококка, стафилококка и кандиды.*

- 1) Как установить роль каждого из выделенных микроорганизмов в этиологии данного заболевания?
- 2) Опишите поэтапно всю схему по назначению рационального лечения.
- 3) Опишите профилактические мероприятия при ВБИ.

*II. Вам поручено организовать профилактические мероприятия в I звене эпидемической цепи.*

- 1) Какое оборудование вам необходимо?
- 2) Какие методики исследований вы планируете применить?
- 3) Опишите одну из самых распространенных методик подробнее.

*III. Перечислите мероприятия для предотвращения распространения возникшей внутрибольничной инфекции, связанной с энтеробактериями в хирургическом отделении.*

- 1) Какие исследования должны быть проведены?
- 2) Определите главные профилактические мероприятия.

*IV. Больная с диагнозом «дизентерия средней тяжести» получала в течение 5 дней антибиотики. Температура тела снизилась, анализ кала на дизентерию отрицателен, но общее состояние остается тяжелым. При повторном исследовании кала отмечен обильный рост стафилококка, а затем и протей.*

- 1) Что явилось причиной неэффективности лечения?
- 2) Какие препараты следует назначать для лечения осложнения?

*V. Ребенку 3 лет поставлен диагноз «энтеробиоз». Проведенная противогельминтная терапия привела к полной дегельминтизации, но не к полному выздоровлению.*

- 1) Какое осложнение может задержать реконвалесценцию?
- 2) Какие препараты необходимы для лечения подобного осложнения?

*VI. Ребенок 4 лет поступил в клинику с диагнозом «острая пневмония средней тяжести». После назначенного лечения антибиотиками (через рот) состояние его ухудшилось, появилась диарея.*

- 1) Что явилось причиной ухудшения состояния больного?
- 2) Какие микробиологические исследования следует провести, чтобы установить причину, вызвавшую осложнение?
- 3) Каковы лечение и профилактика подобных осложнений?

## Занятие 6. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ЭШЕРИХИОЗЫ, ШИГЕЛЛЕЗЫ)

Эшерихиозы – инфекционные болезни, возбудителем которых является *Escherichia coli*. Это острые заболевания, протекающие с синдромом гастроэнтерита или гастроэнтероколита, чаще возникающие у грудных детей и детей старшего возраста. Кишечная палочка вызывает не только диарею, но и поражения любых органов и тканей: мочевыводящих путей, бактериемии, менингиты, респираторные инфекции, особенно у новорожденных.

Шигеллез (бактериальная дизентерия) – инфекционная болезнь, вызываемая бактериями рода *Shigella*, протекающая с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки. Дизентерия как у детей, так и у взрослых составляет значительную часть острых кишечных заболеваний.

**Цель**, стоящая перед студентом, – научиться выделять возбудителя колиэнтерита и дизентерии из испражнений ребенка и идентифицировать выделенную культуру.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими, культуральными, биохимическими и серологическими свойствами энтеропатогенных кишечных палочек и возбудителя дизентерии.
2. Рассмотреть этиопатогенез колиэнтерита и дизентерии у детей, методы взятия материала для исследования и ход микробиологической диагностики.

**Практические навыки**, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах ознакомиться с морфологическими, культуральными, биохимическими и антигенными свойствами энтеропатогенных и условно-патогенных кишечных палочек.
2. На демонстрационных препаратах ознакомиться с морфологией, культуральными и биохимическими свойствами шигелл.
3. Выполнить бактериологическое исследование испражнений ребенка с целью постановки диагноза колиэнтерита и дизентерии.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** Грамотрицательные факультативно-анаэробные и аэробные палочки (энтеробактерии).

### Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 355–363.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 309—313, 317—320.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### ООД по практическому применению знаний

#### Бактериологическое исследование фекалий при колиэнтерите и дизентерии

Операции	Состояние объекта
Материал для исследования забирается с помощью ректального зонда в стерильные или одноразовые пробирки с транспортной средой	
1. 1-й день. Посев фекалий в разведении 1:10 на среды Эндо, Плоскирева и селенитовый бульон. Инкубировать посевы в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
2. 2-й день. Учет результатов – диффузный рост на селенитовом бульоне и рост бесцветных прозрачных колоний на чашках Петри. Приготовить из жидкой среды и 1/2 изолированной колонии препараты-мазки, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять 1/2 колонии на скошенный МПА и среду Ресселя. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
3. 3-й день. Учет результатов посева. Проверить чистоту выделенной культуры. Выполнить посев на среды пестрого ряда. Инкубировать в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате
4. 4-й день. Учет результатов биохимических тестов. Провести серологическую идентификацию в реакции агглютинации. по типу Грубера (см. раздел «Общая микробиология», занятие 14)	Результаты идентификации шигелл. Оформить протокол, подписать у преподавателя

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Проблема кишечных инфекций: микробиологические и эпидемиологические аспекты. Общая характеристика семейства энтеробактерий.
2. Эшерихии. Биологические свойства. Физиологическая роль в кишечнике человека и санитарно-показательное значение.
3. Возбудители эшерихиозов, их дифференциация. Особенности патогенеза эшерихиозов.
4. Эпидемиологическая цепь и схема микробиологической диагностики эшерихиозов. Этиотропная терапия.
5. Эпидемиологическая цепь и схема микробиологической диагностики дизентерии. Этиотропная терапия.
6. Шигеллы – возбудители бактериальной дизентерии. Биологические свойства. Классификация шигелл.
7. Механизмы вирулентности, роль факторов инвазии. Токсины Шига и шигоподобные токсины. Иммунитет. Патогенез дизентерии.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Больному был поставлен клинический диагноз «дизентерия». Однако при бактериологическом исследовании испражнений шигеллы обнаружены не были.*

- 1) Чем это можно объяснить?
- 2) Какие бактерии могли вызвать подобное заболевание?
- 3) Каким методом они могут быть выделены и идентифицированы?

*II. В детском саду была зарегистрирована вспышка дизентерии. Из фекалий больных детей выделены шигеллы Зонне.*

- 1) На основании каких признаков были идентифицированы выделенные культуры?
- 2) Какие дополнительные исследования следует провести для установления источника инфекции?

*III. Больному с бактериологически подтвержденным диагнозом «дизентерия Флекснера» после определения чувствительности бактерий к левомицетину был проведен курс лечения этим антибиотиком. Через неделю после лечения из испражнений этого же больного выделены шигеллы Флекснера с другой антибиотикограммой.*

Объясните причины изменения антибиотикограммы шигеллы Флекснера.

*IV. От больного ребенка с подозрением на колиэнтерит были выделены типичные кишечные палочки, которые не агглютинировались никакими типоспецифическими сыворотками.*

- 1) В каком случае может наблюдаться подобная ситуация?
- 2) Эпидемиологическая цепь и схема микробиологической диагностики дизентерии. Проблема специфической профилактики. Этиотропная терапия.
- 3) Какие бактериологические критерии применяются при выписке больных, перенесших дизентерию?

## **Занятие 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ (БРЮШНОЙ ТИФ И ПАРАТИФЫ, ХОЛЕРА)**

Брюшной тиф и паратифы А и В – острые кишечные инфекции, характеризующиеся поражением лимфатического аппарата кишечника, главным образом тонкой кишки, бактериемией, выраженной интоксикацией, сопровождающиеся увеличением печени, селезенки и часто розеолезной сыпью. Их возбудители – соответственно *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella schottmuelleri*.

Холера – острая, антропонозная инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением тонкой кишки, нарушением водно-солевого обмена и интоксикацией, развитием дегидратации и деминерализации в результате водянистой диареи и рвоты. Это особо опасная, карантинная инфекция, вызываемая *Vibrio cholerae*.

**Цель** – научиться выделять гемокультуру с целью микробиологической диагностики брюшного тифа (паратифа).

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими, культуральными, биохимическими и антигенными свойствами сальмонелл, возбудителей брюшного тифа и паратифов, обратив особое внимание на различия ферментативных признаков.

2. Рассмотреть патогенез и эпидемическую цепь брюшного тифа (паратифов), принципы микробиологической диагностики и специфической профилактики.

3. Ознакомиться с морфологией, культуральными и биохимическими свойствами холерного вибриона.

4. Рассмотреть патогенез холеры, эпидемическую цепь, особенности микробиологической диагностики и специфической профилактики.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться с морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами сальмонелл – возбудителей брюшного тифа (паратифов).

2. Разобрать методы экспресс-диагностики холеры.

3. Ознакомиться со специфическими биологическими препаратами для диагностики и профилактики кишечных инфекций.

4. Провести выделение гемокультуры с целью микробиологической диагностики брюшного тифа (паратифа).

5. Поставить реакцию Видаль с целью серологической диагностики брюшного тифа (паратифа).

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** Грамотрицательные факультативно-анаэробные и аэробные палочки (энтеробактерии).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 363—368, 375—378.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 313—317, 320—323.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**ООД по практическому применению знаний**

**Выделение гемокультуры для диагностики брюшного тифа**

Операции		Состояние объекта
Для исследования забирают кровь из периферических вен в стерильный вакуумный шприц (10–15 мл – у взрослых, 3–5 мл – у детей)		
1.	1-й день. Провести посев крови на среду накопления: 5–10 мл крови внести в колбу с 50–100 мл селенитовой среды. Инкубировать в течение 24 ч при температуре +37°C	Посевы в термостате
2.	2-й день. Учет результатов – помутнение среды. Высев в чашки Петри на среды Эндо, Плоскирева. Инкубировать посев в течение 24 ч при температуре +37°C	Посевы в термостате
3.	3-й день. Учет результатов – рост бесцветных прозрачных колоний. Приготовить из 1/2 колонии препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять 1/2 колонии на скошенный МПА. Инкубировать посев в течение 24 ч при температуре +37°C	Посевы в термостате
4.	4-й день. Учет результатов посева. Проверить чистоту выделенной культуры. Выполнить посев на среды пестрого ряда. Инкубировать в течение 24 ч при температуре +37°C	Посевы в термостате
5.	5-й день. Учет результатов биохимических тестов. Провести серологическую идентификацию сальмонелл с поливалентными О-сыворотками и монорецепторными О- и Н-сыворотками	Результаты идентификации сальмонелл. Оформить протокол, подписать у преподавателя

**Реакция агглютинации** осуществляется по типу реакции Видаля (см. раздел «Общая микробиология», занятие 14).

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Сальмонеллы – возбудители брюшного тифа и паратифов А, Б. Биологические свойства. Антигенная структура.
2. Патогенез и особенности иммунитета. Эпидемическая цепь. Бактерионосительство. На каких этапах заболевания, какой субстрат подвергается исследованию при брюшном тифе (паратифе)?
3. Специфическая профилактика и этиотропная терапия брюшного тифа (паратифов).
4. Сальмонеллы – возбудители госпитальных инфекций.
5. Холерный вибрион – возбудитель холеры. Характеристика. Биовары. Классификация. Факторы патогенности. Токсины и их характеристика.
6. Патогенез и иммунитет при холере. Вибрионосительство. Схема микробиологической диагностики.
7. Эпидемическая цепь при холере. Противоэпидемические мероприятия в очаге и специфическая профилактика и терапия холеры.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Ребенок поступил в больницу с лихорадкой, интоксикацией, затемненным сознанием и бредом, соответствующим понятию «статус тифозус». На пятый день болезни на коже появилась сыпь.*

- 1) Какие микроорганизмы могли вызвать подобное заболевание?
- 2) Какие микробиологические исследования должны быть проведены?

*II. Человек, в прошлом перенесший брюшной тиф, хочет работать в пищеблоке.*

- 1) Можно ли допустить его к этой работе?
- 2) Какие исследования следует провести для решения этого вопроса?
- 3) Какой материал должен быть направлен в лабораторию? Как его правильно взять?

*III. При исследовании на бактерионосительство людей, перенесших брюшной тиф, возбудитель в фекалиях обнаружен не был.*

- 1) Можно ли утверждать, что они не являются бактерионосителями?
- 2) Какой материал необходимо дополнительно исследовать для окончательного заключения? Как его получить?

*IV. У больной с признаками холеры при трехкратном исследовании испражнений и рвотных масс холерный вибрион обнаружить не удалось.*

- 1) Какие еще бактерии могут вызвать подобное заболевание?
- 2) Как их обнаружить и идентифицировать до вида и типа?

*V. У ребенка с острым гастроэнтеритом при бактериоскопии исследуемого материала были обнаружены вибрионы.*

- 1) Можно ли на основании этого исследования поставить диагноз холеры?
- 2) Какая диагностическая ошибка возможна?
- 3) Как установить этиологию заболевания?

## **Занятие 8. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ЧУМЫ, ТУЛЯРЕМИИ, БРУЦЕЛЛЕЗА, СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ)**

*Чума* – острая зооантропонозная инфекционная болезнь, вызываемая *Yersinia pestis*, характеризующаяся сильной интоксикацией, лихорадкой, поражением кожи, лимфатических узлов, легких и других органов, высокой летальностью; относящаяся к особо опасным карантинным (конвенционным) болезням.

*Туляремия* – зоонозная природно-очаговая инфекционная болезнь человека и животных, вызываемая *Francisella tularensis*, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией, поражением лимфатических узлов, дыхательных путей, нарушением целостности покровов.

*Бруцеллез* – зоонозная инфекционная болезнь, вызываемая представителями рода *Brucella*, характеризующаяся длительным течением, лихорадкой, поражением опорно-двигательного аппарата, нервной и других систем.

*Сибирская язва* (от греч. anthrax – злокачественный карбункул) – острая зооантропонозная инфекционная болезнь, вызываемая *Bacillus anthracis*, характеризующаяся тяжелой интоксикацией, поражением кожи, лимфатических узлов и других органов.

**Цель** – научиться оценивать результаты реакции Райта, проводить микроскопическое исследование при подозрении на сибирскую язву, ставить реакцию Асколи.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими и биологическими свойствами возбудителей чумы и туляремии, эндемичностью их распространения.
2. Понять патогенез туляремии, эпидемиологию и патогенез бубонной и легочной форм чумы. Знать специфические препараты для диагностики и профилактики туляремии и чумы. Уметь поставить серологический диагноз.
3. Ознакомиться с особенностями морфологии бруцелл и сибирезязвенных бацилл, с культуральными свойствами последних, со схемами диагностики.
4. Понять патогенез бруцеллеза и сибирской язвы, особенности эпидемиологии, забора материала для исследования, проведения диагностики.
5. Научиться оценивать результаты реакции Райта, проводить микроскопическое исследование при подозрении на сибирскую язву, ставить реакцию Асколи.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. Ознакомиться с морфологией возбудителей туляремии и чумы на демонстрационных препаратах-мазках.
2. Поставить кровяно-капельную реакцию агглютинации с целью ориентировочной диагностики туляремии.

3. На препаратах-мазках из вакцинных штаммов и на демонстрационных посевах ознакомиться с морфологическими и культуральными свойствами бруцелл и сибиреязвенных бацилл.

4. Поставить реакцию агглютинации Райта для диагностики бруцеллеза.

5. Разобрать технику постановки и оценки аллергических проб с применением тулярина, бруцеллина и антраксина.

6. Поставить реакцию термопреципитации Асколи для обнаружения сибиреязвенных антигенов.

7. Ознакомиться с препаратами для специфической профилактики туляремии и чумы, бруцеллеза и сибирской язвы.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** Возбудители особо опасных инфекций. Особенности микробиологических исследований при карантинных инфекциях.

#### **Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 369—372, 393—399, 420—424.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 333—335, 369—379.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

#### **Дополнительная литература:**

Золотарев А. Г., Дармов И. В., Пименов Е. В. Возбудители особо опасных инфекционных заболеваний бактериальной природы. Морфология и ультраструктура. — М. : Медицина, 2006. — 268 с.

### **ООД по практическому применению знаний**

#### **Реакция преципитации (кольцепреципитации), реакция Райта**

(см. раздел «Общая микробиология», занятие 14)

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Проблема карантинных инфекций. Режим работы лаборатории ООИ.  
2. Характеристика *Yersinia pestis*. История изучения. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика и специфическая профилактика чумы.

3. Характеристика *Francisella tularensis*. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика и специфическая профилактика туляремии.

4. Характеристика возбудителей бруцеллеза. Дифференциация бруцелл. Патогенность для человека и животных. Факторы патогенности. Патогенез и иммунитет. Микробиологическая диагностика и специфическая терапия и профилактика.

5. Характеристика бацилл сибирской язвы. Резистентность. Патогенность для человека и животных (факторы патогенности, токсины). Патогенез, иммунитет, диагностика, специфическое лечение, профилактика.

#### **Ситуационные задачи:**

*I. К врачу обратился больной, по специальности скорняк, с жалобами на лихорадку и общее недомогание. При осмотре кожи в области запястья обнаружен карбункул.*

- 1) Какие микроорганизмы могут вызвать подобное заболевание?
- 2) Какие микробиологические исследования должны быть проведены для постановки окончательного диагноза и выяснения источника инфекции?
- 3) Какие препараты необходимо назначить для лечения?

*II. Больной обратился к врачу с жалобами на лихорадку, головные и мышечные боли. Из анамнеза выяснилось, что он работал на животноводческой ферме и употреблял в пищу некипяченое молоко, брынзу, творог и другие молочные продукты.*

- 1) Какие бактерии могли явиться возбудителями данного заболевания?
- 2) Какие микробиологические исследования должны быть проведены?
- 3) Какие препараты следует назначить для лечения и для специфической профилактики этого заболевания?

*III. У промыслового охотника через неделю после возвращения с охоты на ондатру внезапно поднялась температура тела до 39°C, появились резкие головные и мышечные боли, а также припухлость подмышечных лимфатических желез (бубон).*

- 1) Какие микроорганизмы могли вызвать подобное заболевание?
- 2) Какие микробиологические исследования должны быть проведены для диагностики данного заболевания?
- 3) Какие препараты необходимо назначить для лечения и для профилактики этого заболевания?

*IV. У человека, длительно болеющего бруцеллезом, каждый последующий рецидив протекает тяжелее предыдущего с выраженными явлениями специфической сенсibilизации.*

- 1) Каким методом можно определить степень специфической сенсibilизации организма?
- 2) Какой метод специфической иммунотерапии можно использовать в данном случае и как контролировать эффективность лечения?
- 3) Какие препараты можно рекомендовать при отсутствии эффекта?

*V. У больного с тяжелым общим состоянием обнаружен паховый бубон, из свища которого выделяется стекловидная жидкость. В препаратах-мазках: грамотрицательные бактерии средней величины, bipolarно окрашенные бактерии.*

- 1) Какое заболевание можно заподозрить?
- 2) Какие срочные мероприятия следует провести и организовать?
- 3) Какими лабораторными исследованиями можно подтвердить диагноз?

## Занятие 9. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ И КОКЛЮША

Дифтерия – острое инфекционное заболевание, вызываемое *Corynebacterium diphtheriae* (от греч. согуpe – булава, diphthera – пленка), характеризующееся фибринозным воспалением в зеве, гортани, реже – в других органах и явлениями интоксикации с поражением преимущественно сердечно-сосудистой и нервной систем.

Коклюш – острое инфекционное заболевание, вызываемое *Bordetella pertussis* (от лат. pertussis – кашель), характеризующееся поражением верхних дыхательных путей, приступами спазматического кашля и наблюдающееся преимущественно у детей дошкольного возраста.

**Цель**, стоящая перед студентом, – научиться проводить лабораторную диагностику дифтерии и коклюша.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими, культуральными и биологическими свойствами коринебактерий, обратив особое внимание на методы дифференциации истинных дифтерийных бактерий от ложнодифтерийных.
2. Рассмотреть патогенез и основы специфической профилактики дифтерии.
3. Ознакомиться с морфологическими и культуральными свойствами бордетелл, дифференциацией возбудителей коклюша и паракоклюша.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться со свойствами истинных и ложных дифтерийных коринебактерий.
2. Провести окраску зерен волютина по методу Нейссера для микробиологической диагностики дифтерии.
3. На демонстрационных посевах ознакомиться с определением токсигенности коринебактерий.
4. Рассмотреть специфические препараты для профилактики дифтерии.
5. Ознакомиться с лабораторной диагностикой коклюша.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Грамположительные палочки неправильной формы и ветвящиеся (нитевидные) бактерии (коринебактерии, актиномицеты, пропионибактерии, бифидобактерии, эубактерии).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 388—392, 441—450.

2. Микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 272—288.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

#### **Дополнительная литература:**

Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОГАР-Наука, 2008. — С. 308—322.

### **ООД по практическому применению знаний**

#### **Проведение окраски зерен волютина по методу Нейссера для микробиологической диагностики дифтерии**

	<b>Операции</b>	<b>Состояние объекта</b>
1.	Нанести на фиксированный препарат-мазок ацетат синьки Нейссера на 2–3 мин	Препарат-мазок окрашен ацетатом синьки
2.	Слить краску. Нанести раствор Люголя на 30 с	Препарат-мазок окрашен раствором Люголя
3.	Промыть препарат водой	Препарат-мазок промыт водой
4.	Докрасить мазок водным раствором везувина или хризоидина в течение 1 мин	Препарат-мазок докрасен везувином или хризоидином
5.	Промыть мазок водой, высушить на воздухе или при помощи фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов к микроскопированию
6.	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой. <i>Зерна волютина темно-синего цвета, цитоплазма бактерий – желтого цвета</i>	Результаты окраски зерен волютина по методу Нейссера
7.	Оформить результаты в протоколе	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Коринебактерии. Таксономия. Экология.
2. Возбудитель дифтерии. Морфологические, культуральные, биохимические и антигенные свойства. Резистентность. Биовары. Дифференциация от условно-патогенных коринебактерий.

3. Факторы патогенности. Дифтерийный токсин. Как определить токсигенность возбудителя дифтерии?

4. Патогенез дифтерии. Антитоксический иммунитет. Бактерионосительство. Проявления в полости рта.

5. Схема бактериологической диагностики. Какой материал забирается для исследования? Специфическое лечение и профилактика.

6. Бордетеллы. Таксономия, характеристика.

7. Возбудитель коклюша. Морфологические, культуральные, антигенные свойства. Патогенность.

8. Патогенез коклюша. Иммунитет. Дифференциация возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхосептикоза. Специфическое лечение и профилактика.

### **Ситуационные задачи:**

*I. У больного ребенка в мазке из зева были обнаружены бактерии, напоминающие дифтерийные палочки.*

1) Можно ли на основании этих данных поставить диагноз «дифтерия»?

2) Какие дополнительные исследования необходимо провести для подтверждения диагноза?

3) Какие препараты следует назначать для лечения больного и санации бактерионосителей?

*II. В одном из классов средней школы зарегистрированы случаи заболевания дифтерией.*

1) Как установить источник инфекции?

2) Какие препараты применить для лечения и профилактики дифтерии?

*III. При серологическом исследовании сыворотки крови ребенка с кашлем и насморком были обнаружены антитела к бактериям коклюша.*

1) Можно ли на этом основании поставить диагноз «коклюш»?

2) Какие дополнительные исследования необходимо провести для подтверждения или отклонения этого диагноза?

3) Какие препараты следует назначить для лечения коклюша?

## **Занятие 10. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ МИКОБАКТЕРИЯМИ (ТУБЕРКУЛЕЗ, МИКОБАКТЕРИОЗЫ, АКТИНОМИКОЗ)**

Туберкулез (от лат. *tuberculum* – бугорок) первично-хроническое заболевание человека и животных с поражением всех органов и систем, но наиболее часто – органов дыхания, вызываемое кислотоустойчивыми аэробными микобактериями (чаще – *Mycobacterium tuberculosis* (92%), реже – *Mycobacterium bovis* – бычий вид (5%) и *Mycobacterium africanum* – промежуточный вид (3%).

Микобактерии лепры (*Mycobacterium leprae*) – возбудитель проказы, хронического инфекционного заболевания, встречающегося только у людей и характеризующегося длительным инкубационным периодом (от 3–5 до 20–30 лет), генерализацией процесса, поражением кожи, слизистых оболочек, периферических нервов и внутренних органов. В нашей стране случаи заболеваний регистрируют редко. По данным ВОЗ, в мире насчитывается более 10 млн больных лепрой.

Микобактериозы вызывают микобактерии, которые живут как сапрофиты в почве и воде – «микобактерии окружающей среды» (англ. *environmental mycobacteria*), включающие более 100 видов, широко распространенных в природе. Микобактерии-оппортунисты объединены в 4 группы в зависимости от продукции ими желтого или оранжевого пигмента и скорости роста. Они вызывают лимфадениты, поражения кожи, легких и диссеминированные инфекции, особенно у больных СПИДом.

**Цель** – научиться проводить микроскопические исследования с окраской мазков мокроты по Цилю – Нельсену для диагностики туберкулеза.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями морфологии и культуральными свойствами микобактерий туберкулеза.
2. Рассмотреть этиопатогенез туберкулеза легких, значение сенсibilизации организма, методы ее выявления.
3. Ознакомиться с особенностями морфологии и культуральными свойствами других микобактерий – возбудителей лепры и микобактериозов.
4. Рассмотреть особенности морфологии актиномицетов.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах ознакомиться с различными формами микобактерий, характером их роста на плотных питательных средах.
2. Ознакомиться со специфическими препаратами для профилактики и диагностики туберкулеза: БЦЖ, туберкулин.
3. Провести окрашивание по способу Циля – Нельсена готового препарата-мазка из мокроты для микроскопической диагностики туберкулеза.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Грамположительные палочки неправильной формы и ветвящиеся (нитевидные) бактерии (микобактерии, актиномицеты).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 451—469.

2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 288—294.

1. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**Дополнительная литература:**

Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОГАР-Наука, 2008. — С. 308—322.

**ООД по практическому применению знаний**

**Проведение окрашивания по способу Циля – Нельсена  
готового препарата-мазка из мокроты  
для микроскопической диагностики туберкулеза**

	<b>Операции</b>	<b>Состояние объекта</b>
1.	Положить полоску фильтровальной бумаги на фиксированный препарат и нанести карболовый раствор фуксина	Препарат-мазок с карболовым раствором фуксина
2.	Подогреть стекло в течение 5 мин в пламени спиртовки. Наблюдать за появлением паров, глядя на мазок сбоку. При появлении паров отставить препарат в сторону	Препарат подогрет до появления паров. <i>Нагревание усиливает реакцию взаимодействия красителя с бактериальными клетками</i>
3.	Снять фильтровальную бумагу, промыть мазок водой.	Препарат-мазок промыт водой. <i>Все бактерии окрашены в красный цвет</i>
4.	Нанести на препарат 5%-ный раствор серной кислоты на 1 мин.	Препарат-мазок с 5%-ным раствором серной кислоты. <i>Некислотоустойчивые бактерии обесцвечиваются</i>
5.	Промыть препарат-мазок водой	Препарат промыт водой

Операции		Состояние объекта
6.	Нанести на препарат раствор метиленового синего на 3–5 мин.	Препарат-мазок с метиленовым синим. <i>Некислотоустойчивые бактерии окрашиваются в синий цвет</i>
7.	Промыть препарат водой. Высушить препарат-мазок на воздухе или при помощи фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов для микроскопирования
8.	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой.	Результаты окраски кислотоустойчивых бактерий по методу Циля – Нельсена. <i>Кислотоустойчивые бактерии – красного цвета, некислотоустойчивые – синего</i>
9.	Оформить результаты в протоколе	Результаты подписываются преподавателем

#### Вопросы для самоконтроля:

1. Микобактерии. История открытия возбудителя. Таксономия. Экология.
2. Возбудитель туберкулеза. Морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и аллергенные свойства.
3. Особенности химического состава и резистентность. Факторы патогенности. Патогенез туберкулеза. Особенности иммунитета.
4. Устойчивость микобактерий туберкулеза. L-формы.
5. Генетика возбудителя туберкулеза. Вакцинный штамм БЦЖ.
6. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза.
7. Методы лабораторной диагностики. Специфическое лечение и профилактика туберкулеза.
8. Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция. Иммунопрепараты.
9. Календарь вакцинации и ревакцинации.
10. Возбудитель проказы. Таксономия. Характеристика. Патогенез заболевания, иммунитет. Микробиологическая диагностика. Лечение.
11. Возбудители микобактериозов и актиномикоза.

#### Ситуационные задачи:

1. У больного предполагают туберкулез легких.
  - 1) Какие микробиологические исследования необходимо провести?
  - 2) Исключает ли отрицательный результат микробиологического исследования туберкулезный характер поражения?

3) Какое дополнительное исследование необходимо провести для назначения химиотерапии и в какие сроки оно может быть выполнено?

*II. При бактериоскопии мочи были обнаружены кислотоустойчивые палочки.*

1) Можно ли на основании этого исследования поставить диагноз «туберкулез почек»? Какая диагностическая ошибка возможна?

2) Какие методы необходимо использовать для подтверждения диагноза?

*III. При профилактическом обследовании школьников у нескольких из них обнаружены слабоположительные реакции на туберкулин.*

1) Каков механизм туберкулиновых реакций?

2) В каком случае могут быть положительные туберкулиновые реакции?

Как правильно оценить полученные результаты?

*IV. Вам поручено организовать вакцинацию против туберкулеза.*

1) Какие препараты вы должны использовать?

2) Как проводится иммунизация и какие контингенты лиц подлежат вакцинации и ревакцинации?

3) Какие тесты используются для оценки эффективности вакцинации и отбора лиц, подлежащих ревакцинации?

*V. Палату, где находились больные активным туберкулезом органов дыхания с бактериовыделением, решено перепрофилировать в служебное помещение.*

1) Возможно ли выполнить это решение?

2) Как долго могут сохранять свою жизнеспособность микобактерии в помещении?

3) Какие меры необходимо предпринять, чтобы эту палату можно было использовать под служебное помещение?

*VI. Больная 30 лет обратилась в поликлинику по месту жительства с жалобами на кашель с выделением мокроты в течение 4 недель. В мокроте были выявлены кислотоустойчивые бактерии в значительном количестве.*

1) Каким методом был окрашен мазок?

2) Указать этапы окраски мазка.

3) Какой следующий этап необходимо выполнить для идентификации возбудителя туберкулеза?

## Занятие 11. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СПИРОХЕТОЗОВ И РИККЕТСИОЗОВ

Спирохеты – микроорганизмы спирально извитой формы, имеющие патогенных представителей – боррелий, лептоспир и трепонем.

Боррелии вызывают два типа болезни: возвратные тифы (эпидемический и эндемический) и болезнь Лайма (мигрирующая эритема, клещевой иксодовый боррелиоз), передающиеся человеку через укусы членистоногих.

Лептоспиры вызывают зоонозную острую инфекционную болезнь – лептоспироз, характеризующуюся волнообразной лихорадкой, интоксикацией, поражением кровеносных капилляров печени, почек, мышц, ЦНС, нередко сопровождающуюся желтухой, источником инфекции являются дикие животные (грызуны, лисы).

Трепонемы вида *T. pallidum* вызывают венерическую инфекционную болезнь – сифилис, характеризующуюся первичным аффектом, высыпаниями на коже и слизистых с последующим поражением различных органов и систем.

Риккетсии – мелкие, неподвижные грамотрицательные палочки, облигатные внутриклеточные паразиты, вызывающие риккетсиозы: эпидемический (переносчик – вошь) и эндемический, или крысиный (переносчик – блоха), сыпной тиф, клещевой риккетсиоз, лихорадку Ку и др.

**Цель** – научиться готовить препарат «толстую» каплю крови, читать и оценивать результаты реакции Вассермана, осадочной реакции Канна, ставить серологический диагноз эпидемического и эндемического сыпного тифа.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с морфологическими и тинкториальными свойствами патогенных спирохет, со схемами лабораторной диагностики спирохетозов.
2. Рассмотреть патогенез лептоспирозов, возвратного тифа и сифилиса. Объяснить, как взять от больного и направить материал в лабораторию.
3. Ознакомиться с биопрепаратами для диагностики и профилактики спирохетозов.
4. Ознакомиться с морфологией и тинкториальными свойствами риккетсий. Понять патогенез сыпного тифа и лихорадки Ку, объяснить эпидемическую цепь при этих заболеваниях.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах ознакомиться со свойствами спирохет, с ингредиентами для постановки реакции Вассермана и осадочной реакции Кана, объяснить механизм реакций и научиться оценивать результаты реакций.

2. Разобрать, как правильно приготовить препараты «толстая» капля крови и «раздавленная» капля для обнаружения боррелий в крови и когда надо брать у больного кровь для исследования.

3. Рассмотреть, какой материал и как исследуется на каждой стадии течения сифилиса.

4. Окрасить препарат-мазок из риккетсий Провачека разведенным карболовым фуксином. При микроскопии препарата ознакомиться с морфологией риккетсий.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии (трепонемы, боррелии, лептоспиры, кампилобактерии – хеликобактерии, спириллы, волинеллы). Риккетсии.

#### **Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 34—35, 477—484, 487—494.

2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 331—333, 344—349, 379—391.

2. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

#### **Дополнительная литература:**

Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-Наука, 2008. — С. 500—509.

### **ООД по практическому применению знаний**

#### **Окраска препарата из риккетсий Провачека карболовым фуксином**

<b>Операции</b>		<b>Состояние объекта</b>
1.	Окрасить фиксированный препарат разведенным карболовым фуксином в течение 1–2 мин	Препарат-мазок фиолетового цвета
2.	Промыть препарат водой	Препарат-мазок промыт
3.	Высушить препарат на воздухе или при помощи фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов к микроскопированию
4.	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой	В препарате-мазке бактерии окрашены одинаково
5.	Занести результаты в протокол	Результаты подписываются у преподавателя

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Возбудители спирохетозов: боррелии, лептоспиры и трепонемы. Общая характеристика патогенных спирохет.

2. Боррелии. Возбудители эпидемического и эндемического возвратных тифов. Морфологические и культуральные свойства. Патогенез. Иммунитет. Микробиологическая диагностика. Неспецифическая профилактика. Лечение.

3. Характеристика и дифференциация основных свойств лептоспир. Патогенность для человека и животных. Патогенез. Иммунитет. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика. Лечение.

4. Морфология и культуральные свойства бледной трепонемы. Патогенез сифилиса. Микробиологическая диагностика и этиотропная терапия.

5. Возбудители эпидемического и эндемического сыпного тифа, клещевого риккетсиоза, Ку-лихорадки. Биологические свойства. Экология. Хозяева и переносчики. Резистентность. Культивирование. Патогенность. Иммунитет. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и терапия.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Больной Н, геолог, жалуется на высокую температуру тела, которая держится в течение недели. Затем температура нормализовалась, но через 4 дня вновь поднялась до высоких цифр, что сопровождалось ознобом, потливостью, головной болью. Незадолго до заболевания Н. был в экспедиции и ночевал в заброшенном доме.*

Поставьте предварительный диагноз и наметьте план лабораторного обследования больного.

*II. В период летних полевых сельскохозяйственных работ заболело несколько человек, у которых отмечалась высокая температура тела, боли в икроножных мышцах. На 4-й день болезни появилась желтуха.*

1) Какие микроорганизмы могли вызвать данное заболевание?

2) Какие микробиологические исследования следует провести?

3) Какие препараты следует назначить для лечения?

*III. Больной пожилого возраста поступил в клинику со стертой картиной сыпного тифа.*

1) Какие формы сыпного тифа следует дифференцировать?

2) Каким способом можно уточнить диагноз заболевания?

3) Какое практическое значение имеет серологическая диагностика?

*IV. Молодой человек доставлен в больницу с симптомами поражения печени и началом развития почечной недостаточности. До этого он отдыхал в селе, где купался в пруду недалеко от пастбища. Больному поставлен диагноз лептоспироза.*

1) Каков путь заражения больного лептоспирозом?

2) Какие лабораторные исследования подтвердят диагноз?

## Занятие 12. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОПЛАЗМОЗОВ И ХЛАМИДИОЗОВ

Микоплазмоз – антропонозная инфекционная болезнь с респираторным механизмом передачи, вызываемая *Mycoplasma pneumoniae*, характеризующаяся поражением органов дыхания.

*Микоплазмы* – нередкие возбудители ВБИ, обычно проявляют активность при снижении сопротивляемости организма в результате основного заболевания или по другим причинам. У детей дошкольного и младшего школьного возраста 10–20% пневмоний имеют микоплазменную этиологию.

Респираторный хламидиоз (воспаление легких) – антропонозная инфекция, возбудитель – *Chlamydia pneumoniae*.

Трахома – антропонозная хроническая инфекция, вызываемая *Chlamydia trachomatis*, характеризующаяся поражением конъюнктивы и роговицы глаз, иногда приводящим к слепоте.

*Chlamydia psittaci* – возбудитель орнитоза (от греч. *ornis* – птица, зоонозной инфекции, источником которой являются домашние и дикие птицы).

*Ureaplasma* и *Chlamydia trachomatis* могут быть причиной распространенных урогенитальных инфекционных болезней, передающихся половым путем, с молосимптомным течением, но тяжелыми последствиями – бесплодием или заражением новорожденного во время родов.

**Цель**, стоящая перед студентом, – научиться методам лабораторной диагностики микоплазмоза и хламидиоза.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями микоплазм: морфологическими, культуральными и другими биологическими признаками, внутриклеточным паразитизмом, персистенцией в организме.
2. Понять роль микоплазм при пневмониях, ОРЗ, уретритах у мужчин и женщин, в формировании патологии беременности и поражения плода.
3. Познакомиться с морфологией хламидий, методами их культивирования.
4. Понять особенности лабораторной диагностики микоплазмоза и хламидиоза.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

На демонстрациях и с помощью «Атласов электронных микрофотографий» ознакомиться со структурой микоплазм и хламидий.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток.

**Основные положения.** Особенности метаболизма и принципы культивирования микоплазм, хламидий.

### **Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 35—36, 503—518.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 302—305.
3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

### **Дополнительная литература:**

1. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология : рук-во для специалистов клинической лабораторной диагностики. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 480 с.
2. Бактериальный вагиноз : пособие для врачей. — М. : РМАПО, 2001. — 57 с.
3. Инфекции, передаваемые половым путем. Клиника, диагностика, лечение / под ред. В. А. Молочкова, О. Л. Иванова, В. В. Чеботарева. — М. : Медицина, 2006 — 632 с.
3. Лобзин Ю. В., Ляшенко Ю. И., Позняк А. Л. Хламидийные инфекции. — СПб. : Фолиант, 2003. — 396 с.
4. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Инфекционные болезни : учебник. — М. : Медицина, 2003. — С. 262—270.
5. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-Наука, 2008. — С. 659—663.
6. Гранитов. В. М. Хламидиозы : учеб. пособие. — М. : Медкнига, 2002. — 192 с.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Микоплазмы – возбудители пневмонии и ОРЗ. Характеристика, персистенция в организме.
2. Роль микоплазм при уретритах и в патологии беременности и поражении плода.
3. Лабораторная диагностика микоплазмоза. Профилактика.
4. Хламидии – возбудители респираторного и урогенитального хламидиоза, конъюнктивита, отита и пневмонии новорожденных, трахомы и «конъюнктивита бассейнов», орнитоза.
5. Биологические свойства хламидий. Внутриклеточный паразитизм.
6. Лабораторная диагностика хламидиоза. Профилактика.

### **Ситуационные задачи:**

1. *Больной, которому в специализированном центре выставлен диагноз «микоплазма пневмонии» вместо ОРЗ, а также проведено успешное лечение, попросил врачей лаборатории продемонстрировать ему «диковинного» воз-*

будителя этой инфекции. «Диковинного» потому, что, проработав врачом-бактериологом 30 лет, он ни разу под микроскопом не видел его ни в колонии, ни на питательной среде.

1) Назовите питательную среду и добавляемые к ней ингредиенты для выращивания микоплазм.

2) Как выглядят колонии микоплазм, которые увидел бактериолог?

3) Морфология микоплазмы пневмонии, ее антигенные и токсигенные свойства.

*II. Больной обратился с жалобами на тяжесть в пояснице, рези при мочеиспускании, небольшие боли при дефекации, высокую температуру. Поставлен диагноз «острый простатит».*

1) Какие микроорганизмы могли вызвать это заболевание?

2) Как определить уровень поражения мочепоолового тракта?

3) Какие исследования необходимо провести, чтобы подтвердить диагноз «микоплазменного простатита»?

4) Какое следует назначить лечение при подтверждении диагноза?

*III. В поликлинику обратился молодой мужчина с жалобами на зуд и небольшие слизистые выделения из уретры, рези при мочеиспускании. 10 дней назад больной имел половой контакт с малознакомой женщиной.*

1) Перечислите заболевания, которые могут давать такую клинику.

2) Что можно увидеть в препаратах-мазках, приготовленных из соскобов со слизистой уретры при хламидиозе?

3) При диагнозе «хламидиоз» какое следует назначить лечение?

*IV. На третий день после затяжных родов у новорожденного был поставлен диагноз «пневмония».*

1) Какие возбудители могли вызвать заболевание?

2) Какие лабораторные исследования необходимо провести при подозрении на пневмонию хламидиозной этиологии?

3) Какое следует назначить лечение при «хламидиозной пневмонии»?

### Занятие 13. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ГРИПП И ДРУГИЕ ОРВИ, КОРЬ, ПАРОТИТ, КРАСНУХА, ОСПА)

В программу включены следующие РНК-геномные вирусы: гриппа, кори, краснухи, эпидемического паротита, оспы.

Грипп – острая респираторная наиболее массовая инфекция. Возбудитель относится к семейству *Orthomyxoviridae* (от лат. *orthos* – прямой, *myxa* – слизь) имеет однонитчатую РНК и 3 серотипа: А, В и С.

Другие ОРВИ вызывают более 150 разновидностей вирусов.

*РНК-содержащие:*

*I семейство* – *Paramyxoviridae* – парагриппа (5 серотипов) и респираторно-синцитиальный (РС);

*II семейство* – *Picornaviridae* (7 серотипов энтеровирусов Коксаки и ЕСНО и 120 серотипов риновирусов);

*III семейство* – *Reoviridae* (3 серотипа, поражающих респираторный и желудочно-кишечный тракты);

*IV семейство* – *Coronaviridae* (3 серотипа, поражающих респираторный и желудочно-кишечный тракты).

*ДНК-содержащие: V семейство* – *Adenoviridae*.

Корь – острая инфекционная болезнь (лат. *morbilli*), характеризующаяся лихорадкой, катаральным воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей и глаз, сыпью на коже. Возбудитель относится к семейству *Paramyxoviridae*, рода *Morbivirus*.

Эпидемический паротит («свинка») – острая детская вирусная инфекция, характеризующаяся поражением околоушных слюнных желез и других органов. Возбудитель из семейства *Paramyxoviridae*, рода *Paramyxovirus*.

Краснуха (лат. *rubella*) – острая, преимущественно детская вирусная инфекция, характеризующаяся кореподобной розовой сыпью на коже, увеличением лимфатических узлов. Возбудитель – РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Togaviridae* (от лат. *toga* – плащ), роду *Rubivirus* (от лат. *rubrum* – красный).

Натуральная оспа – особо опасная высококонтагиозная инфекция, характеризующаяся тяжелым течением, лихорадкой и обильной сыпью на коже и слизистых оболочках. Возбудитель – ДНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Poxviridae* (от англ. *pox* – язва), роду *Orthopoxvirus*. Оспа ликвидирована в 1977 г., до этого она относилась к карантинным инфекциям.

**Цель** – научиться серологической диагностике гриппа; оценивать риск заражения возбудителями вирусных инфекций при медицинских манипуляциях и применению биопрепаратов для диагностики, специфической профилактики и терапии вирусных инфекций.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями патогенеза и эпидемической цепи при гриппе и других ОРВИ.
2. Рассмотреть особенности забора материала для исследования, основные приемы лабораторной диагностики при этих инфекциях.
3. Ознакомиться с биопрепаратами для диагностики, профилактики и терапии вирусных инфекций.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. Ознакомиться с методом циториноскопии с целью ориентировочной диагностики гриппа и других ОРЗ, с биопрепаратами для диагностики и профилактики вирусных инфекций.
2. Поставить РТГА со смывом из носоглотки больного с целью типирования вируса гриппа. Учесть результаты РТГА с сывороткой больного гриппом.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** РНК-геномные вирусы (гриппа, кори, краснухи, эпидемического паротита). ДНК-содержащие вирусы (аденовирусы, натуральной оспы).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. —44–547, 560–570, 587—589.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 394—400.
4. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

**Дополнительная литература:**

- Деева Э. Г. Грипп, на пороге пандемии : рук-во для врачей. — М. : ГОЭТАР-Медиа, 2008. — 198 с.

### **ООД по практическому применению знаний**

**РТГА со смывом из носоглотки больного с целью типирования вируса гриппа** (см. раздел «Общая микробиология», занятие 9).

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Классификация вирусов гриппа. Особенности генома. Характеристика антигенов. Патогенез гриппа. Роль персистенции. Иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и лечение гриппа.

2. Аденовирусы. Характеристика и классификация. Структура вириона. Антигены. Культивирование. Патогенез заболеваний. Персистенция. Лабораторная диагностика.

3. Вирусы парагриппа человека 1–5 типов, вирус эпидемического паротита. Роль в формировании патологии человека. Иммуниетет. Специфическая профилактика.

4. Вирус кори, биологические свойства. Патогенез заболевания. Иммуниетет и специфическая профилактика.

5. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в формировании патологии человека. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

6. Вирус натуральной оспы. Патогенетические особенности заболевания. Лабораторная диагностика. Внутриклеточные включения (тельца Гварниери).

### **Ситуационные задачи:**

*I. У больного с помощью РСК и РТГА были обнаружены противогриппозные антитела.*

1) Как подтвердить диагноз «грипп»?  
2) Можно ли обнаружить противогриппозные антитела у здорового человека?

3) Какие вирусологические исследования проводятся при эпидемии гриппа?

*II. В детском коллективе зарегистрирован случай кори.*

1) Какие мероприятия необходимо провести, чтобы исключить распространение инфекции?

2) Какие вирусологические исследования проводят в этом случае?

*III. В межэпидемический период у больного выделен вирус гриппа А2.*

1) Какие дополнительные исследования необходимо провести, чтобы исключить или подтвердить диагноз гриппа?

2) Следует ли назначать антибиотики? В каких случаях они необходимы?

*IV. Больной Л. 8 лет жалуется на повышение температуры тела, насморк, кашель. Объективно: на коже и слизистых оболочках – геморрагическая сыпь, конъюнктивит, на слизистой оболочке щек – пятна Филатова – Коплика.*

Каков Ваш диагноз? Методы подтверждения диагноза.

*V. В детскую инфекционную клинику поступил больной с диагнозом «краснуха», имевший контакт с беременной (3 месяца) родственницей.*

Ваши действия по отношению к контактной.

*VI. Больная О. 6 лет жалуется на увеличение околоушных желез, без гноя. Ребенок посещает детский сад, где неделю назад имела место вспышка инфекционного заболевания.*

Каков Ваш диагноз и ход лабораторного исследования?

## **Занятие 14. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ЭНТЕРОВИРУСЫ, ВИРУСЫ ГЕПАТИТОВ А И Е)**

*Энтеровирусы* (от греч. *enteron* – кишка) – РНК-содержащие, относятся к семейству *Picornaviridae* (от лат. *pico* – малая величина, *RNA* – рибонуклеиновая кислота), роду *Enterovirus*. Обитают преимущественно в кишечнике человека и вызывают разнообразные по клиническим проявлениям болезни. Патогенными представителями являются 3 типа вирусов полиомиелита; 31 тип вирусов Коксаки А и В и ЕСНО (от англ. *enteric cytopathogenic human orphans virus* – кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты); энтеровирусы с 68 по 71 тип.

Вирусы энтеральных гепатитов А и Е – РНК-содержащие, относятся к разным семействам. Вирус гепатита А – к семейству *Picornaviridae*, роду *Hepatovirus*. Вирус гепатита Е – к семейству *Caliciviridae*, роду *Hepevirus*.

**Цель** – научиться оценивать результаты цветной реакции (серологическая диагностика полиомиелита).

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с классификацией пикорнавирусов и лабораторной диагностикой энтеровирусных инфекций.
2. Уметь оценить результаты цветной реакции (серологическая диагностика полиомиелита).
3. Ознакомиться с биопрепаратами для специфической профилактики и терапии энтеровирусных инфекций.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. Учесть результаты цветной реакции (Солка) с сывороткой больного полиомиелитом. Оценить и сделать заключение.
2. Ознакомиться с биопрепаратами для диагностики и профилактики полиомиелита и других энтеровирусных инфекций.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** РНК-геномные вирусы (энтеровирусы, вирусы гепатитов А и Е).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 521—526, 583—584.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 402—405, 425—426.

5. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

#### Дополнительная литература:

1. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология : рук-во для специалистов клинической лабораторной диагностики. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 480 с.

2. Бондаренко А. Л. Вирусные гепатиты у подростков. — Киров, 2002. — 272 с.

3. Лабораторная диагностика и профилактика вирусных инфекций : учеб.-метод. пособие / Е. В. Гарасько [и др.]. — Иваново, 2001. — 56 с.

4. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Инфекционные болезни : учебник. — М. : Медицина, 2003. — С. 273—279, 333—345.

5. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-Наука, 2008. — С. 277—286, 293—298.

### ООД по практическому применению знаний

#### Индикация вируса полиомиелита по цветной пробе (цветная реакция Солка)

Операции	Состояние объекта
<p>Цветная проба основана на регистрации изменения цвета. В качестве индикатора в этой реакции выступает живая культура ткани и индикатор на рН. Индикатор работает так: живая культура ткани активно метаболизирует, изменяет рН среды и меняется цвет индикатора. <i>Реакция ставится с парными сыворотками, т. е. в динамике с интервалом в 5–7 дней. Титр антител должен быть не ниже 1:32</i></p>	
<p>1. Внести в пробирки с живой культурой и индикатором на рН одинаковое количество разведенной от 1:2 до 1:64 сыворотки крови больного с подозрением на полиомиелит</p>	<p>Пробирки с живой культурой, индикатором и сывороткой больного</p>
<p>2. Добавить во все пробирки одинаковое количество цитопатических доз вируса. Инкубировать при температуре 37°C</p>	<p>Пробирки в термостате</p>
<p>3. Учесть результаты пробы по изменению цвета. <i>Титром антител в этой реакции считается пробирка с максимальным разведением сыворотки, в которой изменился цвет.</i> Оформить протокол</p>	<p>Результаты подписываются преподавателем</p>

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЕСНО, энтеровирусы 68–71. Характеристика вирионов. Антигены. Культивирование. Резистентность.
2. Патогенез. Иммунитет. Специфическая профилактика и терапия энтеровирусных инфекций.
3. Вирус гепатита А – возбудитель инфекционного гепатита. Биологические свойства. Патогенез заболевания.
4. Вирус гепатита Е. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций.

### **Ситуационные задачи:**

*I. Больной обратился к врачу с жалобами на резкую слабость и желтуху. При анамнезе выяснилось, что он купался в реке, где организован водопой животных. Среди животных имели место случаи заболевания лептоспирозом. Врач поставил два предварительных диагноза – гепатита и лептоспироза.*

- 1) Какие микроорганизмы могли вызвать эти заболевания?
- 2) Какие исследования могут помочь дифференцировать эти заболевания?
- 3) Как дифференцировать гепатит А и В?

*II. В детском саду заболел ребенок. Диагноз – инфекционный гепатит.*

- 1) Какой препарат рекомендовать контактным детям?
- 2) Оптимальная профилактическая доза гамма-глобулина.
- 3) Существуют ли другие средства специфической профилактики?

*III. У ребенка 4-х лет умеренно повысилась температура тела, появились катаральные явления, а через несколько дней на фоне падения температуры присоединились боли и подергивание мышц нижней конечности, затем развился вялый паралич нижней конечности.*

Ваш план лабораторной диагностики.

*IV. В лабораторию поступил материал (фекалии) от больного с подозрением на энтеровирусную инфекцию.*

- 1) Какие биологические объекты используют для выделения вирусов?
- 2) Какова особенность выделения некоторых вирусов Коксаки А?

*V. В инфекционную больницу поступил больной с предположительным диагнозом «энтеровирусная инфекция».*

Какие вирусологические методы необходимо использовать для уточнения диагноза и идентификации возбудителя?

*VI. В детском саду зарегистрирован случай полиомиелита.*

Какие профилактические мероприятия необходимо провести в данном коллективе с целью предупреждения эпидемической вспышки?

## **Занятие 15. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ГЕПАТИТЫ В, С, D, ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ)**

Парентеральные гепатиты – антропонозные инфекционные болезни с длительным течением, вирусоносительством, часто заканчивающиеся острой печеночной недостаточностью, а хронический злокачественный гепатит – циррозом печени и первичным раком печени. Передаются через кровь и половым путем.

Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД, или AIDS, от англ. *acquired immunodeficiency syndrome*) – антропонозная инфекционная болезнь, вызываемая вирусом иммунодефицита (ВИЧ, или HIV, от англ. *human immunodeficiency virus*).

**Цель** – научиться оценивать риск заражения возбудителями вирусных кровяных инфекций при медицинских манипуляциях.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с характеристикой вирусов, вызывающих парентеральные гепатиты, и вируса иммунодефицита человека.
2. Ознакомиться с препаратами для профилактики и терапии вирусных кровяных инфекций.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. Ознакомиться с биопрепаратами для профилактики и терапии вирусных кровяных инфекций.
2. По демонстрациям анатомии и онтогенеза вирусов человека и животных зарисовать монослойную культуру клеток, пораженную (цитопатический эффект) и не пораженную вирусами.

**Исходные знания.** Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения.** ДНК-геномные вирусы (гепатита В), РНК-содержащие вирусы (гепатита С, D, G, ВИЧ-инфекции).

**Основная литература:**

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 576—581, 589—592, 610—611.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 405—417.

### **Дополнительная литература:**

1. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология : рук-во для специалистов клинической лабораторной диагностики. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 480 с.
2. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-Наука, 2008. — С. 458—486.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Вирус гепатита В. История открытия. Структура вириона. Антигены: Hbs, Hbc, Hbe, Hbx. Резистентность. Культивирование. Пути передачи.
2. Особенности патогенеза гепатита В. Персистенция. Иммуитет. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика.
3. Возбудители гепатитов С, D, G. Общая характеристика. Свойства. Роль в формировании патологии человека. Диагностика.
4. Вирус иммунодефицита человека. Морфология. Изменчивость. Резистентность. Культивирование. Клетки-мишени в организме. Стадии взаимодействия вируса с чувствительными клетками.
5. Патогенез ВИЧ-инфекции. Иммуитет. Лабораторная диагностика. Лечение. Профилактика. СПИД-ассоциированные инфекции.

### **Ситуационные задачи по теме:**

*I. К врачу обратился больной с жалобами на высокую температуру тела и боль в горле при глотании, головную и мышечные боли. Лечение антибиотиками эффекта не дало. Больной употребляет наркотики.*

- 1) Какое заболевание можно заподозрить?
- 2) Какие лабораторные исследования необходимо провести для подтверждения диагноза?

*II. К врачу обратился больной с жалобами на упорную диарею, боли в мышцах, лихорадку. Бактериологически причина диареи не выявляется. Антибиотики в лечении диареи эффекта не дают.*

- 1) Какое заболевание можно заподозрить?
- 2) Какие лабораторные исследования необходимо провести для установления диагноза?

*III. В лабораторию поступил материал от больного с подозрением на гепатит В (вторая неделя заболевания).*

- 1) Какие методы используются для выделения антигена?
- 2) Какие реакции можно дополнительно поставить в случае отрицательного результата исследования по идентификации антигена?

*IV. Больная А. 18 лет жалуется на общую слабость, плохой аппетит, тошноту, рвоту, чувство тяжести в правом подреберье, кожный зуд. При осмотре: язык обложен серым налетом, склеры глаз и кожа желтушны.*

- 1) Каков предположительный диагноз?
- 2) Что брать у больной для лабораторного исследования?
- 3) Какие методы применить? От каких инфекций дифференцировать?

## **Занятие 16. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (БЕШЕНСТВО, ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ)**

Бешенство (*rabies*, син.: водобоязнь, гидрофобия) – инфекционная болезнь, развивающаяся после укуса инфицированным животным или попаданием в рану его слюны. Характеризуется поражением ЦНС с развитием симптомов возбуждения, параличом глотательной и дыхательной мускулатуры, высокой вероятностью летального исхода. Возбудитель – РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Rhabdoviridae* (от греч. *rhabdos* – прут), роду *Lyssavirus*.

Среди длительно персистирующих часто встречается давно известная герпетическая инфекция (от греч. *herpes* – расползаться). Она характеризуется поражением кожи, слизистых оболочек, ЦНС, внутренних органов, пожизненным носительством и рецидивами. Возбудитель – ДНК-содержащий вирус простого герпеса, относящийся к семейству *Herpesviridae*, роду *Simplexvirus*.

**Цель**, стоящая перед студентом, – научиться микроскопической диагностике бешенства и герпетической инфекции.

На занятии студентам предстоит решить следующие **задачи**:

1. Ознакомиться с особенностями этиопатогенеза и эпидемической цепи при бешенстве и герпетической инфекции.
2. Ознакомиться с методами и препаратами для диагностики, специфической профилактики и терапии инфекций.

**Практические навыки**, подлежащие освоению в ходе занятия:

1. На демонстрационном препарате ознакомиться с микроскопической диагностикой бешенства.
2. На демонстрационном наборе ознакомиться с биопрепаратами для диагностики, специфической профилактики и терапии инфекций.

**Исходные знания**. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

**Основные положения**. РНК-геномный вирус (бешенства), ДНК-содержащий вирус (вирус простого герпеса).

**Основная литература**:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 571—574, 592—600.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 400—402, 423—425.

3. Практикум лабораторных работ с иллюстрированными ситуационными заданиями по микробиологии, иммунологии и вирусологии / под ред. А. А. Воробьева, В. Н. Царева. — М. : МИА, 2008. — 320 с.

#### **Дополнительная литература:**

1. Кузнецов О. Ю. Медицинские биологические препараты в диагностике, профилактике и лечении инфекций. — Иваново: ГОУ ВПО ИвГМА Росздрава, 2009. — 84 с.

2. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-Наука, 2008. — С. 398—422, 632—642.

3. Гранитов В. М. Герпесвирусная инфекция. — М. : Медицина, 2001. — 82 с.

4. Исаков В. И., Сельков С. А., Мошетьова Л. К. Современная терапия герпесвирусыных инфекций. — М. : Медицина, 2004. — 168 с.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Персистенция вирусов, ее механизмы: дефектные интерферирующие частицы, интеграция вирусного и клеточного геномов.

2. Активация персистирующих вирусов под действием физических, химических и биологических факторов.

3. Система защиты организма и персистенция вирусов: недостаточная продукция антител, недостаточность клеточно-иммунной реакции, дефектная продукция интерферона.

4. Методы выявления персистирующих вирусов: серологические, молекулярно-биологические, электронно-микроскопические и др.

5. Свойства вируса бешенства. Патогенез, лабораторная диагностика и специфическая профилактика бешенства.

6. Герпесвирусы. Характеристика, классификация, структура вирионов, культивирование, резистентность. Вирусы простого герпеса: серотипы 1 и 2. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и лечение

#### **Ситуационные задачи:**

*1. Больной, поступившей в клинику на 10-й день заболевания с подозрением на герпетическую инфекцию, врач назначил исследование крови в реакции связывания комплемента. Пациентка раньше такой болезнью не страдала. Среди родственников и знакомых это заболевание также не было зарегистрировано. Больная спросила у своего лечащего врача: «Что Вы хотите обнаружить в крови с помощью этих исследований?»*

1) Просим вас ответить на этот вопрос. Как ставится РСК?

2) Каковы методы ретроспективной диагностики герпетической инфекции? Достоинства и недостатки диагностики герпетической инфекции.

## Итоговые контрольные вопросы по занятиям 1–16

Студентам следует отчитаться по итогам лабораторных занятий, теоретическим вопросам частной медицинской микробиологии по материалам лекционного курса, основной и дополнительной литературы.

1. Характеристика возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний и раневых инфекций. Методы микробиологической диагностики инфекционных болезней.
2. Стафилококки. Таксономия. Характеристика. Роль в формировании заболеваний полости рта. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
3. Стрептококки. Таксономия. Характеристика. Роль в формировании заболеваний полости рта. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
4. Возбудители эшерихиозов. Таксономия. Характеристика. Роль кишечной палочки в норме и при патологии. Микробиологическая диагностика эшерихиозов. Лечение.
5. Возбудители шигеллеза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
6. Возбудители брюшного тифа и паратифов. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
7. Возбудители сальмонеллезов. Таксономия. Характеристика. Микробиологический диагноз сальмонеллезов. Лечение.
8. Возбудитель ботулизма. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
9. Возбудители холеры. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
10. Возбудитель дифтерии. Таксономия и характеристика. Условно-патогенные коринебактерии. Микробиологическая диагностика. Выявление антиоксического иммунитета. Специфическая профилактика и лечение.
11. Возбудители коклюша и паракоклюша. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
12. Возбудители туберкулеза. Таксономия. Характеристика. Условно-патогенные микобактерии. Микробиологическая диагностика туберкулеза.
13. Возбудитель легионеллезов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.
14. Возбудитель хламидиозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

15. Микоплазмы. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.
16. Возбудитель сифилиса. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.
17. Возбудитель лептоспирозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика. Лечение.
18. Возбудитель боррелиозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика.
19. Роль условно-патогенных микроорганизмов в возникновении внутрибольничных инфекций. Оппортунистические болезни челюстно-лицевой области.
20. Синегнойная палочка. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика и лечение.
21. Классификация грибов. Характеристика. Роль в патологии человека. Лабораторная диагностика. Лечение.
22. Возбудители ОРВИ. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
23. Возбудитель гриппа. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
24. Возбудитель полиомиелита. Таксономия и характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
25. Возбудители гепатитов А и Е. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
26. Возбудитель бешенства. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
27. Возбудитель натуральной оспы. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика оспы на современном этапе.
28. Возбудитель краснухи. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
29. Вирус кори. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
30. Герпес-инфекция: таксономия, характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
31. Возбудители гепатитов В, С, D. Таксономия. Характеристика. Носительство. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
32. ВИЧ-инфекция. Таксономия, характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика, профилактика.
33. Возбудитель атипичной пневмонии. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
34. Иммуноterapia и иммунопрофилактика при инфекционных болезнях.

**При подготовке к ответу студентам рекомендуется придерживаться следующего алгоритма изложения:**

1. Проблема инфекции в настоящее время.
2. Характеристика возбудителя: классификация; морфология, тинкториальные и культуральные свойства; физиология и биохимические свойства; антигенная структура; вирулентность и резистентность.
3. Эпидемическая цепь.
4. Этиопатогенез.
5. Лабораторная диагностика.
6. Специфическая профилактика и лечение.

### **ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ПО ЧАСТНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

- 1. К микроорганизмам, длительно сохраняющимся в почве, относятся**
  - 1) стафилококки
  - 2) клостридии
  - 3) стрептококки
  - 4) дрожжеподобные грибы рода *Candida*
- 2. Скарлатину вызывают**
  - 1) *Escherichia coli*
  - 2) *Streptococcus pyogenes*
  - 3) *Clostridium tetani*
  - 4) *Campylobacter fetus*
- 3. Коклюш вызывают**
  - 1) *Bordetella pertussis*
  - 2) *Proteus vulgaris*
  - 3) *Treponema pallidum*
  - 4) *Shigella sonnei*
- 4. Менингит вызывают**
  - 1) *Neisseria meningitides*
  - 2) *Shigella sonnei*
  - 3) *Bacteroides fragilis*
  - 4) *Proteus vulgaris*
- 5. Дифтерию вызывают**
  - 1) энтерококки
  - 2) коринебактерии
  - 3) бациллы
  - 4) псевдомонады

- 6. Метод окраски возбудителей туберкулеза**
- 1) по Цилю – Нельсену
  - 2) по Ожешко
  - 3) по Бури – Гинсу
  - 4) по Нейссеру
- 7. Метод темнопольной микроскопии информативен для изучения**
- 1) кишечной палочки
  - 2) бледной трепонемы
  - 3) стафилококка
  - 4) хламидий
- 8. Возбудители неспецифических гнойно-воспалительных процессов:**
- 1) гонококки
  - 2) клостридии
  - 3) стафилококки
  - 4) шигеллы
- 9. В состав биотерапевтических препаратов, используемых для коррекции микрофлоры, входят следующие бактерии**
- 1) стафилококки
  - 2) бифидобактерии
  - 3) клебсиеллы
  - 4) псевдомонады
- 10. Экзотоксин продуцируют возбудители**
- 1) кори
  - 2) дифтерии
  - 3) эпидемического паротита
  - 4) хламидиоза
- 11. Нейротоксин продуцируют**
- 1) *C. diphtheriae*
  - 2) *C. tetani*
  - 3) *V. cholerae*
  - 4) *S. aureus*
- 12. Диагностика пищевых токсикоинфекций включает**
- 1) обнаружение антител в сыворотке больного
  - 2) выделение и идентификацию бактерий – возбудителей заболеваний
  - 3) выявление антигена в исследуемом материале
  - 4) выделение и идентификацию вирусов-возбудителей заболеваний
- 13. Заболевания, передающиеся водным путем**
- 1) холера
  - 2) коклюш
  - 3) бруцеллез
  - 4) туберкулез

- 14. Реакции клеточного иммунитета человека нарушены при**
- 1) синдроме приобретенного иммунодефицита
  - 2) ботулизме
  - 3) отеке Квинке
  - 4) моноклональной гаммапатии
- 15. *Clostridium tetani* вызывает следующий тип инфекции**
- 1) бактериемию
  - 2) вирусемию
  - 3) токсинемию
  - 4) септицемию
- 16. Дифтерийный токсин по механизму действия на клетку-мишень является**
- 1) активатором аденилатциклазной системы
  - 2) ингибитором синтеза белка
  - 3) блокатором передачи нервного импульса
  - 4) эксфолиативным токсином
- 17. Возбудителя холеры можно обнаружить**
- 1) в крови
  - 2) в моче
  - 3) в кале
  - 4) в слюне
- 18. Возбудителей брюшного тифа в первую неделю заболевания можно обнаружить**
- 1) в крови
  - 2) в кале
  - 3) в моче
  - 4) в желчи
- 19. Для бактериологического подтверждения дизентерии используется**
- 1) кровь
  - 2) моча
  - 3) кал
  - 4) желчь
- 20. Для подтверждения диагноза сыпного тифа используется**
- 1) посев крови
  - 2) обнаружение специфических антител
  - 3) микроскопия мазка крови
  - 4) посев кала
- 21. Антибиотиком выбора при лечении госпитальных инфекций, вызванных штаммами метициллинрезистентных стафилококков, является**
- 1) ампициллин
  - 2) оксациллин
  - 3) ванкомицин
  - 4) эритромицин
  - 5) гентамицин

- 22. Вакцинный препарат для профилактики туберкулеза**
- 1) БЦЖ
  - 2) лактобактерин
  - 3) стафилококковый бактериофаг
  - 4) иммуноглобулин нормальный человеческий
- 23. Вакцинный препарат для профилактики дифтерии**
- 1) АКДС
  - 2) БЦЖ
  - 3) вакцина «ГЕП-А-инВАК»
  - 4) вакцина СТИ
- 24. Ревакцинацию БЦЖ проводят в возрасте**
- 1) 3–4 лет
  - 2) 4–5 лет
  - 3) 6–7 лет
  - 4) 12–13 лет
- 25. Для подтверждения диагноза менингита используется**
- 1) желчь
  - 2) ликвор
  - 3) кал
  - 4) моча
- 26. Вакцина против гепатита В представляет собой**
- 1) живую культуральную вирусную вакцину
  - 2) инактивированную культуральную вирусную вакцину
  - 3) генноинженерную дрожжевую вакцину
  - 4) субъединичную вакцину
- 27. НВс-антиген вируса гепатита В можно обнаружить**
- 1) в сыворотке крови
  - 2) в вагинальном секрете
  - 3) в гепатоцитах
  - 4) в слюне
- 28. При диагностике сыпного тифа используют**
- 1) реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА)
  - 2) реакцию связывания комплемента (РСК)
  - 3) полимеразно-цепная реакцию (ПЦР)
  - 4) вирусную гемагглютинацию (РГА)
- 29. Лечение антитоксической сывороткой проводится при**
- 1) брюшном тифе
  - 2) дифтерии
  - 3) гриппе
  - 4) кори

- 30. Пассивный антитоксический иммунитет развивается при введении**
- 1) бифидумбактерина
  - 2) противодифтерийной сыворотки
  - 3) АДС-М
  - 4) вакцины менингококковой полисахаридной групп А и С
- 31. Для проведения туберкулинодиагностики используется**
- 1) проба Пирке
  - 2) проба Коха
  - 3) проба Манту
  - 4) проба Квейма
- 32. Туберкулин представляет собой препарат, содержащий**
- 1) убитые микобактерии человеческого и бычьего видов
  - 2) взвесь осколков разрушенных микобактерий человеческого вида
  - 3) продукты жизнедеятельности микобактерий человеческого и бычьего видов
  - 4) лиофилизированные микобактерии штамма БЦЖ
- 33. Вирус иммунодефицита человека отнесен к семейству**
- 1) ретровирусов
  - 2) пикорнавирусов
  - 3) миксовирусов
  - 4) реовирусов
- 34. Вирус гриппа относится к семейству**
- 1) реовирусов
  - 2) пикорнавирусов
  - 3) ортомиксовирусов
  - 4) ретровирусов
- 35. ДНК-содержащим является возбудитель**
- 1) гепатита А
  - 2) гепатита В
  - 3) гепатита С
  - 4) гепатита D
- 36. Основной путь передачи гепатита В детям первого года жизни**
- 1) грудное молоко
  - 2) воздушно-капельный
  - 3) парентеральный
  - 4) фекально-оральный
- 37. Диагноз ВИЧ-инфекции наиболее достоверно подтверждает**
- 1) клинический анализ крови
  - 2) ИФА
  - 3) соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров
  - 4) иммуноблоттинг

- 38. *Shigella flexneri* вызывает**
- 1) чуму
  - 2) дифтерию
  - 3) дизентерию
  - 4) возвратный тиф
- 39. Возбудителем сыпного тифа является**
- 1) *Yersinia pestis*
  - 2) *Salmonella typhi*
  - 3) *Borrelia recurrentis*
  - 4) *Rickettsia prowazekii*
- 40. Возбудителем сибирской язвы является**
- 1) *Corynebacterium diphtheriae*
  - 2) *Bacillus anthracis*
  - 3) *Klebsiella pneumoniae*
  - 4) *Bacteroides fragilis*
- 41. Развитие псевдомембранозного колита на фоне антибиотикотерапии вызывает**
- 1) *Clostridium perfringens*
  - 2) *Clostridium difficile*
  - 3) *Clostridium septicum*
  - 4) *Clostridium histolyticum*
- 42. Основной препарат для лечения туберкулеза**
- 1) амикацин
  - 2) изониазид
  - 3) ампициллин
  - 4) гентамицин
- 43. Антибиотиком выбора для лечения инфекций, вызванных облигатными неспорообразующими анаэробами, являются**
- 1) клиндамицин
  - 2) канамицин
  - 3) ципрофлоксацин
  - 4) пенициллин
- 44. Препаратом выбора при лечении хламидийной инфекции является**
- 1) ампициллин
  - 2) гентамицин
  - 3) нистатин
  - 4) азитромицин
- 46. Этиотропный препарат для лечения гриппа:**
- 1) бисептол
  - 2) ремантадинин
  - 3) эритромицин
  - 4) пенициллин

- 46. Решающим в лечении ботулизма является**
- 1) пенициллин
  - 2) анатоксин
  - 3) антитоксическая сыворотка
  - 4) реополиглокин
- 47. Римантадин назначается при**
- 1) гриппе
  - 2) парагриппе
  - 3) риновирусной инфекции
  - 4) аденовирусной инфекции
- 48. Эндотоксин играет основную роль в патогенезе инфекции, вызываемой**
- 1) *Vibrio cholerae*
  - 2) *Staphylococcus aureus*
  - 3) *Salmonella typhi*
  - 4) *Clostridium perfringens*
- 49. Метод серологической диагностики – это**
- 1) определение наличия антител в организме
  - 2) определение тинкториальных свойств
  - 3) определение биохимической активности
  - 4) культивирование на питательных средах
- 50. Метод диагностики аллергии – это**
- 1) определение наличия аллергенов в организме
  - 2) определение наличия антител в организме
  - 3) постановка кожных проб с бактериальными аллергенами
  - 4) постановка кожных проб с использованием анатоксинов

**Ответы:**

**1 – 2), 2 – 2), 3 – 1), 4 – 1), 5 – 2), 6 – 1), 7 – 2), 8 – 3), 9 – 2), 10 – 2), 11 – 2), 12 – 3), 13 – 1), 14 – 3), 15 – 4), 16 – 2), 17 – 3), 18 – 1), 19 – 3), 20 – 2), 21 – 3), 22 – 1), 23 – 1), 24 – 3), 25 – 2), 26 – 3), 27 – 2), 28 – 1), 29 – 2), 30 – 2), 31 – 3), 32 – 3), 33 – 1), 34 – 3), 35 – 2), 36 – 3), 37 – 4), 38 – 2), 39 – 1), 40 – 2), 41 – 2), 42 – 2), 43 – 1), 44 – 3), 45 – 2), 46 – 3), 47 – 1), 48 – 3), 49 – 1), 50 – 3).**

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
----------------	---

### ***ОБЩАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ***

<i>Занятие 1.</i> Микроскопический метод исследования морфологии бактерий .....	5
<i>Занятие 2.</i> Микроскопические методы изучения структуры бактериальной клетки .....	9
<i>Занятие 3.</i> Бактериологический метод исследования. Выделение чистых культур аэробных бактерий .....	13
<i>Занятие 4.</i> Бактериологический метод исследования. Выделение чистых культур анаэробных бактерий .....	17
<i>Занятие 5.</i> Микробы и внешняя среда .....	20
<i>Занятие 6.</i> Влияние на микробы физических и химических факторов. Дезинфекция и стерилизация .....	24
<i>Занятие 7.</i> Наследственность и изменчивость микроорганизмов .....	27
Итоговые контрольные вопросы по занятиям 1–7 .....	31
<i>Занятие 8.</i> Бактериофаги: получение, титрование, применение .....	32
<i>Занятие 9.</i> Вирусоскопический и вирусологический методы исследования. Индикация и идентификация вирусов .....	35
<i>Занятие 10.</i> Микрофлора тела человека. Дисбактериозы .....	38
<i>Занятие 11.</i> Антагонизм микробов и антибиотики .....	43
<i>Занятие 12.</i> Инфекция. Патогенность и вирулентность микробов .....	46
<i>Занятие 13.</i> Механизмы неспецифической защиты организма. Иммунитет .....	50
<i>Занятие 14.</i> Иммунные реакции. Практическое применение реакций антигенов с двухвалентными антителами .....	53
<i>Занятие 15.</i> Иммунные реакции. Практическое применение реакций антигенов с одновалентными антителами .....	58
<i>Занятие 16.</i> Иммунобиологические препараты. Основы иммунотерапии и иммунопрофилактики .....	61
Итоговые контрольные вопросы по занятиям 8–16 .....	64
Тестовые задания по общей микробиологии .....	65

## **ЧАСТНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ**

<i>Занятие 1.</i> Микробиологическая диагностика кокковых инфекций (стафилококки) .....	72
<i>Занятие 2.</i> Микробиологическая диагностика кокковых инфекций (стрептококки, пневмококки, энтерококки, менингококки, гонококки) .....	76
<i>Занятие 3.</i> Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями (протей, клебсиеллы, серрации, псевдомонас, акинетобактерии, моракселлы, легионеллы, кампилобактер) .....	80
<i>Занятие 4.</i> Микробиологическая диагностика микозов .....	84
<i>Занятие 5.</i> Особенности диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций. Дисбактериозы .....	87
<i>Занятие 6.</i> Микробиологическая диагностика кишечных инфекций (эшерихиозы, шигеллезы) .....	91
<i>Занятие 7.</i> Микробиологическая диагностика острых кишечных инфекций (брюшной тиф и паратифы, холера) .....	94
<i>Занятие 8.</i> Микробиологическая диагностика зоонозных инфекций (чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы) .....	97
<i>Занятие 9.</i> Микробиологическая диагностика дифтерии и коклюша .....	100
<i>Занятие 10.</i> Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных микобактериями (туберкулез, микобактериозы, актиномикоз) .....	103
<i>Занятие 11.</i> Лабораторная диагностика спирохетозов и риккетсиозов .....	107
<i>Занятие 12.</i> Лабораторная диагностика микоплазмозов и хламидиозов ...	110
<i>Занятие 13.</i> Лабораторная диагностика вирусных инфекций (грипп и другие ОРВИ, корь, паротит, краснуха, оспа) .....	113
<i>Занятие 14.</i> Лабораторная диагностика вирусных инфекций (энтеровирусы, вирусы гепатитов А и Е) .....	116
<i>Занятие 15.</i> Лабораторная диагностика вирусных инфекций (парентеральные гепатиты В, С, D, ВИЧ-инфекция) .....	119
<i>Занятие 16.</i> Лабораторная диагностика вирусных инфекций (бешенство, герпетическая инфекция) .....	121
Итоговые контрольные вопросы по занятиям 1–16 .....	123
Тестовые задания по частной медицинской микробиологии .....	125

Учебное издание

*Составитель* Гарасько Екатерина Владимировна

МИКРОБИОЛОГИЯ и ВИРУСОЛОГИЯ

*Методические разработки*

*для самостоятельной подготовки студентов*

*2 и 3 курсов лечебного и педиатрического факультетов*

*Редактор* С. Г. Малытина

Подписано в печать 12.04.2012. Формат 60×84 1/16.

Усл. печ. л. 7,9. Тираж 60 экз. Заказ №

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия»

Минздравсоцразвития России

153012, г. Иваново, просп. Ф. Энгельса, д. 8

Тел.: (4932) 32-95-74. E-mail: rioivgma@mail.ru

Издательско-полиграфический комплекс «ПресСто»

153025, г. Иваново, ул. Дзержинского, д. 39, оф. 307

Тел.: (4932) 30-42-91, 30-43-07. E-mail: presto@mail.ru