

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

Кафедра микробиологии и вирусологии

Е. В. Гарасько

**МИКРОБИОЛОГИЯ,
ВИРУСОЛОГИЯ,
МИКРОБИОЛОГИЯ ПОЛОСТИ РТА**

*Учебное пособие для студентов,
обучающихся по специальности
060201 «Стоматология»*

*2-е издание,
переработанное и дополненное*

Иваново 2013

Рецензенты:

зав. кафедрой микробиологии и вирусологии ГБОУ ВПО ГНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России доктор медицинских наук, профессор Л. И. Кафарская;

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия» Минздрава России доктор медицинских наук, профессор В. М. Червинец

Гарасько, Е. В.

Микробиология, вирусология, микробиология полости рта : учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 060201 «Стоматология» / Е. В. Гарасько. – 2-е изд., перераб. и доп. – Иваново : ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава России, 2013. – 120 с.

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 специальности «Стоматология» с учётом рекомендаций примерной образовательной программы высшего профессионального образования и примерной учебной программы дисциплины (2011).

Предназначены для внеаудиторной подготовки студентов 2 и 3 курсов стоматологического факультета.

Учебное издание

Екатерина Владимировна Гарасько

МИКРОБИОЛОГИЯ,
ВИРУСОЛОГИЯ,
МИКРОБИОЛОГИЯ ПОЛОСТИ РТА

*Учебное пособие для студентов,
обучающихся по специальности 060201
«Стоматология»*

Редактор С. Г. Мальтина

Подписано в печать 27.05.2013. Формат 60×84 1/16.

Усл. печ. л. 6,98. Тираж 60 экз.

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России
153012, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8.
Тел.: (4932) 32-95-74. E-mail: rioivgma@mail.ru

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!

Занятие 1. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИИ И СТРУКТУРЫ БАКТЕРИЙ

Размеры всех объектов, являющихся предметом изучения микробиологии и вирусологии, находятся далеко за пределами разрешающей способности человеческого глаза. Морфология микроорганизма (его форма, размеры, взаиморасположение клеток), поверхностные структуры и внутренняя организация являются чрезвычайно важной его характеристикой и лежат в основе таксономии.

Микроскопическая диагностика инфекционных заболеваний требует навыков изучения морфологии бактерий путем микроскопии препарата-мазка, окрашенного простым или сложным способом. При простом способе мазок окрашивают каким-либо одним красителем, например, водным фуксином (2–3 мин) или метиленовой синью (3–5 мин). Сложные способы включают последовательное нанесение на препарат красителей, различающихся по химическому составу и цвету. Одним из важнейших методов изучения структуры бактериальной клетки является способ Грама, позволяющий подразделять мир бактерий на две группы: грамположительные и грамотрицательные. С помощью способа Ожешки можно обнаружить споры бацилл. Способ Нейссера выявляет волутиновые зерна в протоплазме микробов.

Цели: 1) научиться готовить препараты-мазки из чистых культур на жидкой и плотной питательных средах, окрашивать простыми способами, различать основные формы бактерий; 2) научиться окрашивать мазки сложными способами: по Граму, Ожешки, Нейссеру.

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

1. Познакомиться с оборудованием и правилами поведения и работы в микробиологической лаборатории.
2. Ознакомиться с морфологией микроорганизмов.
3. Восстановить навык работы с биологическим микроскопом, научиться пользоваться его иммерсионной системой.
4. Научиться различать основные группы: фирмикутные и грациликутные бактерии.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

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

Исходные знания:

1. Устройство и оптические характеристики микроскопа. Схема темнопольного конденсора и фазовоконтрастного устройства.
2. Особенности структуры эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Морфология микробов. Ультраструктура и химический состав бактерий. Характеристика микроскопического метода исследования. Простые и сложные 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—42.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 48—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:

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

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

Операции		Состояние объекта
1.	Взять предметное стекло	Чистое предметное стекло
2.	Обозначить место нанесения материала стеклоглафом 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 физиологическим раствором в левую руку, бактериальную петлю – в правую. Стерильно извлечь из пробирки петлю с физиологическим раствором	Бактериальная петля с физиологическим раствором

Операции		Состояние объекта
5.	Нанести на стекло петлю с физиологическим раствором	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 физиологического раствора на стекле петлю с микробной массой	На предметном стекле физиологический раствор и микробная масса
9.	Эмульгировать бактерии в капле физиологического раствора на стекле	На предметном стекле однородная мутная взвесь микробной массы
10.	Распределить полученную взвесь равномерным тонким слоем на поверхности стекла площадью в десятикопеечную монету	Препарат-мазок из исследуемого материала
11.	Прокалить петлю (фламбирование)	Стерильная петля
12.	Высушить препарат на воздухе или над пламенем горелки	Высушенный препарат-мазок, готовый для фиксации
13.	Зафиксировать препарат-мазок – провести 3 раза через верхнюю часть пламени спиртовки (мазок должен быть сверху)	Фиксированный неокрашенный препарат-мазок из исследуемого материала
14.	Окрасить фиксированный препарат-мазок водным фуксином в течение 1–2 мин или метиленовым синим в течение 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>	Результаты проверяются и подписываются преподавателем
	<i>фуксином</i>	

Сложные методы (окраска по Граму)

Операции		Состояние объекта
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. <i>Грамположительные бактерии – фиолетового цвета, а грамотрицательные – красного</i>	Результаты окраски мазков по методу Грама
8.	Оформить результаты	Протоколы подписываются преподавателем

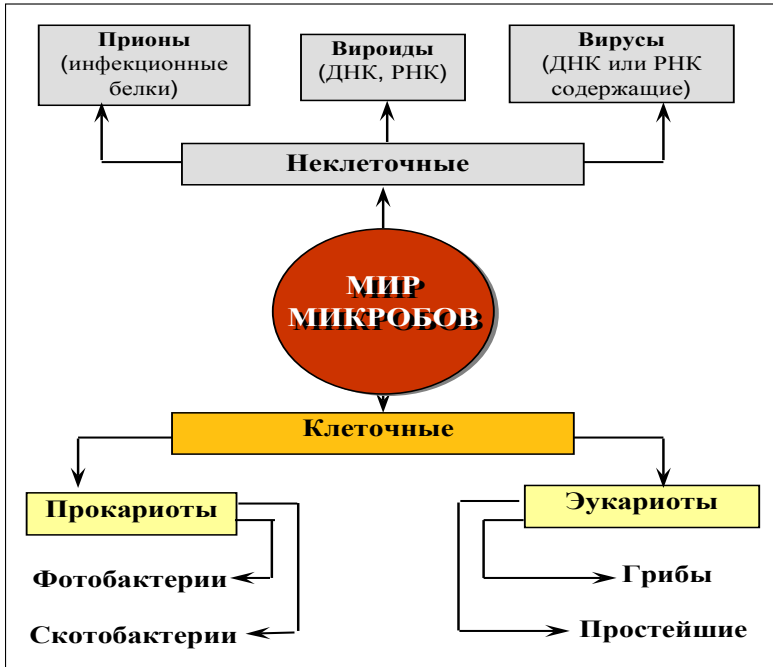
Микроскопирование мазков с использованием иммерсионной системы и светового микроскопа

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
5.	Медленно опустить (<i>глядя на столик с боку</i>) с помощью микровинта объектив до соприкосновения с маслом и немного погрузить в него	Микроскоп готов к работе с иммерсионной системой
6.	Поднять тубус (<i>очень медленно, глядя в окуляр</i>) с помощью макровинта до появления объекта. <i>Опускать объектив с помощью макровинта, глядя в окуляр, нельзя!</i>	Объект – в поле зрения Четкое изображение объекта.
7.	Достичь четкости изображения с помощью микровинта с возможной подстройкой одним оборотом в ту или иную сторону	Результаты зарисовать в протоколе и подписать у преподавателя

Вопросы для самоконтроля:

1. Предмет и задачи медицинской микробиологии. История развития. Значение микробиологии и иммунологии в подготовке врача-стоматолога.
2. Систематика микробов. Принципы систематики.
3. Понятия «вид», «штамм», «культура», «клон», «популяция».
4. Основные морфологические группы и размеры бактерий. Морфология спирохет, грибов, риккетсий.
5. Правила приготовления препарата-мазка, фиксация, окраска простыми способами. Механизм и порядок окраски по Граму, по Ожешки, по Нейссеру.
6. Ультраструктура бактериальной клетки. Капсулы, жгутики. Споробразование. Протопласты и сферопласты. Особенности ультраструктуры спирохет, хламидий, микоплазм, грибов.
7. Различные способы и приёмы микроскопического исследования бактерий.

Классификация микробов



Характеристика клеточных форм

<i>Признак</i>	<i>Прокариоты</i>	<i>Эукариоты</i>
Размер	1 – 10 мкм	10 – 100 мкм
Ядерная мембрана	–	+
Хромосома	одна	несколько
Рибосомы	70 S	80 S
Митохондрии	–	+
Анаэробное дыхание	возможно	отсутствует
Фиксация азота	возможна	невозможна
Тип деления	бинарный	митотический
Скорость деления	высокая (t =15-30 мин)	низкая (t =10ч -10 сут)
Число генов	до 5 тысяч	до 10 тысяч

Занятие 2. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ. ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ 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.

Термин «чистая культура» подразумевает, что на питательной среде растет микроб одного вида. Проверка этого положения достигается двумя путями. Макроскопически оценивается однородность роста культуры на скошенном агаре. Более надежной является микроскопическая оценка. Если в полях зрения находятся однородные по форме, расположению и окраске клетки, то это дает основание для заключения, что выделена «чистая культура». Если выделенная культура «чистая», то можно приступить к её идентификации, т. е. установлению биологического вида микроба.

Цель: освоить методы посевов и пересевов аэробных и анаэробных 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 и анаэробов.
2. Познакомиться с особенностями механизма дыхания бактерий, значением окислительно-восстановительного потенциала (rH_2) среды для дыхания.
3. Научиться выделять абсолютных аэробов и анаэробов из внешней среды.
4. Научиться исследовать биохимические свойства 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 и анаэробных бактерий (на среде Китта – Тароцци). Определить чистоту культуры. Зарисовывать различные виды колоний, типы роста на плотных и жидких питательных средах.
3. Познакомиться с методами культивирования анаэробов в условиях пониженного окислительно-восстановительного потенциала среды.
4. Познакомиться с методами обнаружения сахаролитических и протеолитических экзоферментов.
5. Определить биохимические свойства микробов с использованием сред пестрого ряда (сред Гисса).

Исходные знания:

1. Физиологические свойства клеток.
2. Свойства биологических мембран.
3. 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.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 51—68.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 67—81.

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

Операции		Состояние объекта
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 часа при температуре + 37°C	Чашка дном вверх поставлена в термостат, чтобы конденсат не заливал посева
5.	Вынуть чашку из термостата. Изучить колонии макроскопически (величина, форма, прозрачность, характер краев, структура)	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 грамположительные или грамотрицательные бактерии

8.	Вторую часть колоний пересеять на скошенный МПА. Посевы инкубировать при температуре + 37°С в течение 24 часов	Посевы в термостате
9.	Вынуть посевы из термостата, сделать препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать	Выделена чистая культура. Зарисовать. Результат подписать у преподавателя

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 Китта – 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 анаэроостат для инкубации на 18–24 ч	Чашки с посевом дном вверх поставлены в анаэроостат
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 Китта – 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
-----	---	---

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

Операции		Состояние объекта
Среды Гисса (набор углеводов и высших спиртов – «пестрый ряд») – полужидкие и жидкие среды, содержащие глюкозу, лактозу, манит, мальтозу, сахарозу и индикатор на pH		
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 выделения газа – Кг).</i>	Результаты определения биохимических свойств микробов фиксируются в протоколе и подписываются у преподавателя

Вопросы для самоконтроля:

1. Химический состав бактерий. Типы и механизм питания бактерий.
2. Простые и сложные питательные среды. Требования к ним.
3. Методы выделения чистой культуры бактерий и ее идентификация.

4. Размножение бактерий. Скорость и фазы размножения.
5. Культуральные свойства бактерий.
6. Ферменты микробов. Их значение в идентификации бактерий. Методы изучения.
7. Основные типы и сущность процессов дыхания бактерий. Окислительно-восстановительный потенциал (rH_2) среды, его роль в дыхании бактерий.
8. Методы выделения чистых культур анаэробов.
9. Питательные среды для культивирования анаэробов.

Ситуационные задачи:

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

Подберите питательные среды для выделения чистой культуры?

II. В препарате-мазке обнаружены мелкие грамотрицательные палочки.

Как выделить чистую культуру и идентифицировать ее?

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

Как выделить чистую культуру возбудителя?

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.

VI. 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 неферментирующим углеводы.

VII. Какими свойствами должна обладать питательная среда для культивирования бактерий?

1) Буферностью; 2) изотоничностью; 3) стерильностью.

Занятие 3. СТЕРИЛИЗАЦИЯ И ДЕЗИНФЕКЦИЯ. ПРЕДСТЕРИЛИЗАЦИОННАЯ ОБРАБОТКА И СТЕРИЛИЗАЦИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ

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).

Стерилизация – процесс уничтожения или удаления на объектах всех живых микроорганизмов, включая споры бактерий, вирусы и вириды. Стерильный объект свободен от жизнеспособных микробов, их спор и других возбудителей инфекций. Используемые для стерилизации химические вещества называют стерилиантами.

Дезинфекция – уничтожение, подавление или удаление микроорганизмов, способных вызывать заболевание. Дезинфектанты (обычно химические вещества) применяют для обработки объектов внешней среды или (перед медицинскими манипуляциями) для обработки кожи и слизистых оболочек. После дезинфекции объект не всегда бывает стерильным, поскольку может содержать жизнеспособные споры и небольшое количество других форм микробов.

К понятию «дезинфекция» близок термин «санация» – снижение микробной популяции до принятого безопасного уровня. Неодушевленные объекты обычно очищают и частично дезинфицируют.

Цель: освоить методы оценки антимикробной активности дезинфицирующих средств.

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

1. Ознакомиться на демонстрационных посевах с действием на бактерии физических и химических факторов.
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. Дезинфекция и стерилизация. Предстерилизационная обработка материалов и оборудования в стоматологической практике. Способы стерилизации и дезинфекции в стоматологии. Аппаратура.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед информ. аг-во, 2008. — С. 96—101, 136.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 122—143.

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 10%-ным раствором хлорамина, раствором фуксина Циля, кристаллическим фиолетовым раствором. <i>Перед наложением последующего диска пинцет стерилизуют над пламенем спиртовки</i>	Чашка Петри с бумажными дисками
5.	Чашку закрыть и поставить в термостат при + 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

Систематизация приборов, процессов обработки и средств для дезинфекции и стерилизации (Царев В. Н., 2009)

Классификация инструментов	Основные типы инструментов	Характер обработки и виды воздействий
Критические - проникают в стерильные ткани или сосуды	Все инвазивные хирургические инструменты, имеющие контакт с кровоснабжаемыми тканями, скальпели, иглы шприцы, имплантаты, боры, корневые иглы, экскаваторы, зонды, гладилки	Стерилизация включает вирулицидные, спороцидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия Длительная экспозиция: гамма-лучи, плазма, длительная газовая и химическая стерилизация, автоклавирувание (2 атм. 15 мин), сухой жар (максим. режим, 2 ч)
Полукритические – соприкасаются со слизистыми оболочками (за исключением ряда стоматологических инструментов, перечисленных выше)	Гибкие эндоскопы, катетеры, инструменты аналогичные гибким эндоскопам, зеркала, коронки, наконечники турбин, а также оттиски (слепки) зубов Термометры для измерения температуры слизистой оболочки, ванны для гидротерапии, УЗ-ванночки и УФ-лампы стоматологов, физиотерапевтические инструменты, ложки для слепков	Дезинфекция высокого уровня включает вирулицидные, спороцидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия Кратковременная экспозиция: гамма-лучи, плазма, кратковременная газовая и химическая стерилизация, автоклавирувание (1–1,5 атм. 15 мин), сухой жар Дезинфекция среднего уровня включает вирулицидные, туберкулоцидные, бактерицидные воздействия Средства для химической дезинфекции с указанием на маркировке туберкулоцидной активности
Некритические – соприкасаются с неповрежденной кожей	Термометры для измерения температуры кожных покровов, стетоскопы, манжетки аппараты для измерения давления и т. П.	Дезинфекция низкого уровня включает бактерицидные воздействия Средства для химической дезинфекции без указания наличия туберкулоцидной активности

Вопросы для самоконтроля:

1. Действие физических и химических факторов на микробы.
2. Стерилизация. Приборы и способы стерилизации.
3. Понятие о дезинфекции. Дезинфицирующие вещества.
4. Приборы и методы стерилизации.
5. Принципы деконтаминации в стоматологии.
6. Понятие о критических, полукритических и некритических материалах и инструментах.
7. Особенности стерилизации и предстерилизационной обработки стоматологических инструментов, боров, наконечников и т. п.
8. Соотношение процессов предстерилизационной обработки, дезинфекции и стерилизации.
9. Антисептики и дезинфектанты в стоматологии.

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 с, 2) при 65–95°C в течение 30 с – 2 мин, 3) при 35–65°C – в течение 60 мин.

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

- 1) допускается ли совмещение дезинфекции и предстерилизационной очистки, или они должны проводиться раздельно;
- 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 4. ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР

Термин вирулентность используют для оценки степени патогенности. Патогенность – способность вызывать заболевание – видовое свойство бактерий, присущее виду в целом, которая может проявляться в разной степени у разных представителей данного вида. Патогенность и вирулентность (лат. *virulentus* – ядовитый) означают одно и то же – способность вызывать заболевание, но под вирулентностью понимают количественную оценку, т. е. меру, степень патогенности. Вирулентность может быть усилена (повышена) и ослаблена (понижена). Изучение отдельных факторов вирулентности возбудителя является важным этапом при микробиологической диагностике инфекций.

Антибиотики – наиболее эффективные препараты для лечения заболеваний, вызываемых микроорганизмами. Понятие «антибиотики» предложено С. Ваксманом: «Химические вещества, образуемые микроорганизмами, которые обладают способностью подавлять рост или даже разрушать бактерии и другие микроорганизмы». З. В. Ермольева дала более широкое толкование: «Антибиотики – вещества природного происхождения, обладающие выраженной биологической активностью. Они могут быть получены из микробов, растений, животных тканей и синтетическом путем».

Эра антибиотиков позволила кардинально решить проблему лечения многих заболеваний. Умение определить чувствительность микробов к антибиотикам – обязательный практический навык будущего врача.

Цели: 1) научиться правилам заражения и вскрытия лабораторного животного, погибшего от инфекции; 2) научиться ставить и оценивать «дисковую пробу» для определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

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

1. Ознакомиться с методами определения факторов агрессивности и токсигенности.
2. Ознакомиться с правилами заражения и вскрытия лабораторного животного, погибшего от инфекции. Исследовать микрофлору зараженных органов.
3. Рассмотреть основные группы антибиотических препаратов, механизм их действия на бактерии, принципы рациональной антибиотикотерапии.
4. Разобрать качественные, количественные и экспресс-методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

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.

3. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом «дискосовой пробы».

4. На демонстрационных посевах познакомиться с методами изучения чувствительности бактерий к антибиотикам: «серийным разведением антибиотиков в питательной среде» и другими.

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

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

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 95—96, 124—134, 137—182.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 161—181.

Дополнительная литература:

Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск : МАКМАХ, 2007. — 464 с.

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 (<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	Выполнен кожный разрез

Операции		Состояние объекта
	боковые надрезы на уровне передних и задних лап	
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 груди. 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
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	Труп обеззаражен

Операции		Состояние объекта
	дезинфицирующим раствором	
17.	Зафиксировать мазки-отпечатки смесью Никифорова и окрасить метиленовым синим	Мазки-отпечатки зафиксированы и окрашены
18.	Микроскопировать препараты, используя иммерсионную систему	Результаты заражения и вскрытия белой мыши
19.	Инкубировать посе́вы 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 чувствительности бактерий к антибиотикам
методом диффузии в агаре**

Операции		Состояние объекта
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. Равномерно распределить взвесь по поверхности агара, покачивая чашку («посев газоном»)	Чашки Петри с равномерным распределением культуры
3.	Слить избыток жидкости из 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.	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 (<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 (10 мм – культура чувствительна, 15 мм и более – высокочувствительна, менее 10 мм – малочувствительна, отсутствие стерильной зоны – нечувствительна)	Результаты оценки чувствительности культуры методом диффузии в агар. Оформить протокол и подписать у преподавателя
----	---	--

Сравнительная характеристика токсинов бактерий

Экзотоксины	Эндотоксины
Выделяются микробом в среду	Освобождаются при разрушении бактерий
Белки	ЛПС с белком (глюцидолипидно-протеиновый комплекс)
Термолабильны, 60–80°C, 10 мин	Термостабильны, 120 °C, 30 мин
Продуцируются Гр+ бактериями (реже Гр-)	Образуют Гр- бактерии
Высокотоксичны (истинные токсины)	Слаботоксичны
Обладают специфическим действием. Органо-, цитотропны	Обладают общетоксическим действием (не обладают избирательным действием на клетки)
Имеют латентный период действия	Не имеют латентного периода действия
Активные антигены. Высокая иммуногенность	Слабые антигены
Легко обезвреживаются (0,3-0,4% формалином, 40°C, 30 дней)	Трудно обезвреживаются (трихлоруксусной кислотой)
При специальной обработке переходят в анатоксины	Не переходят в анатоксин. Малочувствительны к хим. веществам

Вопросы для самоконтроля:

1. Понятие об инфекции и инфекционном процессе. Формы инфекционного процесса.
2. Гетерогенность человеческой популяции с точки зрения восприимчивости к инфекции.
3. Влияние состояния макроорганизма, внешней среды и социальных условий на возникновение и развитие инфекционного процесса.
4. Патогенность и вирулентность микробов. Методы определения факторов вирулентности бактерий. Единицы измерения вирулентности.
5. Агрессивность, токсичность и токсигенность микробов, их генетические детерминанты. Экзотоксины и эндотоксины.
6. Генетический контроль факторов патогенности у микробов. Роль плазмид.
7. Патогенные свойства риккетсий, хламидий, микоплазм, грибов, вирусов.
8. Определение понятий «оппортунистическая болезнь», «реинфекция», «суперинфекция», «микст-инфекция». Ремиссия и рецидив. Бактерионосительство.
9. Антибиотики различного происхождения, спектр и механизм действия на микроорганизмы. Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам.
10. 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?

III. 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?

IV. Больному при лечении антибиотиками широкого спектра действия назначили противогрибковый препарат.

- 1) С какой целью он назначен?
- 2) Объясните механизм действия.

Занятие 5. 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.

Основой таксономии вирусов является вирион, который представляет собой конечную фазу развития вируса. Вирион состоит из геномной нуклеиновой кислоты, окруженной одной или двумя оболочками. По строению вирусы можно разделить на четыре типа, которые различаются по характеру упаковки морфологических субъединиц:

- 1) вирусы со спиральной симметрией;
- 2) изометрические вирусы с кубической симметрией;
- 3) вирусы с бинарной симметрией, например фаги: у них головка имеет кубический тип симметрии, а хвостик – спиральный;
- 4) более сложно организованные вирусы, имеющие вторую оболочку.

Оболочка, в которую упакована геномная нуклеиновая кислота, называется капсидом (греч. *capsa* – ящик).

Наиболее просто организованные вирусы представляют собой нуклеокапсиды: они состоят только из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, построенной из идентичных пептидных молекул.

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.
3. Ознакомиться со свойствами бактериофага, методами его выделения и титрования.

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.
3. Поставить опыт титрования бактериофага по методу Грациа.

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

Основные положения. Общая вирусология. Понятие о вирусе, вирионе, бактериофаге. Классификация вирусов. Способы культивирования вирусов. Механизмы изменчивости вирусов. Строение и репродукция бактериофагов. Их медицинское значение. 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, 74—82.
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 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 минуты. <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. Оформить протокол и подписать у преподавателя

Титрование бактериофага по методу Грациа

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить суточную бульонную культуру <i>E. coli</i>	Культура <i>E. coli</i>
2.	Подсушить чашки Петри с мясо-пептонным агаром (МПА) в термостате	Чашки Петри с МПА
3.	Приготовить десятикратный раствор 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 раствора 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 температуре 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 его литическое действие</i>	Результаты титрования бактериофага по методу Грациа
10.	Оформить результаты в протоколе	Результаты проверяются и подписываются у преподавателя

Схема микробиологической диагностики вирусных инфекций



Вопросы для самоконтроля:

1. Принципы классификации и номенклатуры вирусов. Криптограммы.
2. Особенности структурной организации вирусов. Морфология, ультраструктура и химический состав вирусов.
3. Этапы взаимодействия вируса с клеткой. Понятие вирогении. Внутриклеточный цикл развития вирусов.
4. Методы культивирования вирусов на куриных эмбрионах, на трипсинизированных и перевиваемых клеточных культурах, на животных.
5. Особенности взаимодействия ретровирусов с клеткой.
6. Вироиды и прионы, их роль в патологии.
7. Общая характеристика механизмов изменчивости вирусов.
8. Методы обнаружения вирусов – геагглютинация, ЦПД, РТГА, ИФА и др.
9. Бактериофаг. Классификация, механизмы взаимодействия бактериофага с клеткой. Лизогения. Понятия «профаг», «дефектный фаг».
10. Получение и титрование бактериофага. Фаготипирование.
11. Практическое значение фагов в биологии и медицине.
12. Молекулярно-генетический метод диагностики. ПЦР.

Занятие 6. СТРОЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ГЕНОМА. НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ У БАКТЕРИЙ

Под геномом понимают всю совокупность нуклеотидов, содержащихся в хромосоме или в наборе хромосом данного индивидуума. Объем генома у представителей различных царств жизни очень сильно варьирует. Именно от объема генома, который определяет возможное количество генов, и зависит степень сложности структурной организации данного индивидуума и, соответственно, уровень и характер проявления им своей жизни. Под генотипом понимают всю совокупность имеющихся у данного существа индивидуальных генов.

У бактерий, вирусов и плазмид большая часть нуклеотидов ДНК входит в состав генов, поэтому размеры геномов у них выражают либо в молекулярной массе соответствующей геномной нуклеиновой кислоты, либо в количестве нуклеотидных пар, содержащихся в геномной нуклеиновой кислоте, либо в количестве имеющихся у них генов.

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: овладеть экспериментальными методами исследования генетической изменчивости бактерий: конъюгацией и трансдукцией.

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: конъюгацией и трансдукцией.

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 плазмид (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. Генетика бактерий. Молекулярно-генетический метод диагностики. Наследственность и изменчивость у бактерий. Полимеразная цепная реакция и её применение.

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—119.

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 трансдукции

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

Опыт конъюгации

Операции	Состояние объекта	
<p>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 L-) не растет на минимальной среде без добавления треонина и лейцина</p>		
1.	<p>Приготовить смывы культур <i>E. coli</i> Hfr (Ti-) и <i>E. coli</i> F (Tr-, L-) в физиологическом растворе в пробирках</p>	Смывы культур в физиологическом растворе
2.	<p>Смешать по 0,5 мл взвеси каждого штамма в стерильной пробирке. Все три пробирки поставить в термостат на 15 мин</p>	Пробирки со штаммами в термостате
3.	<p>Сделать высев петлей из каждой пробирки на сектор минимальной среды, подписав посеvy, поставить в термостат на сутки</p>	Чашки Петри с высевом в термостате
4.	<p>Учесть результаты предыдущей группы: взвеси штаммов донора и реципиента не дают роста, смесь штаммов дает рост небольшого количества рекомбинатов.</p> <p><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-, L-) гены (Tr-, L-), а ген (Ti-) не успевает передаться, так как он расположен на другом конце хромосомы</i></p>	Чашки Петри с результатом. Протокол эксперимента оформить по обычной схеме, подписать у преподавателя

Вопросы для самоконтроля:

1. Строение бактериального генома. Особенности взаимосвязи генотипа и фенотипа у прокариот.
2. Современные представления о механизмах репликации хромосомной ДНК у бактерий.
3. Характеристика и механизмы основных форм изменчивости у бактерий.
4. Ненаследуемая изменчивость. Диссоциация: S-, R-, L-формы бактерий.
5. Наследуемая изменчивость. Мутации, их виды. Мутагены физические, химические, биологические.
6. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Лизогенная конверсия. Понятия «прототроф», «ауксотроф».
7. Плазмиды, их генетические функции. Вектор в генной инженерии.
8. Роль мутаций и рекомбинаций в эволюции микроорганизмов.
9. Значение генетики в развитии общей и медицинской микробиологии.
10. Живые вакцины. Генная инженерия.
11. Принципы генетического анализа.

Ситуационные задачи:

I. В инфекционном отделении больницы у больных с диареей при анализе кала 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 надо провести бактериологическое исследование?

V. Какой вид изменчивости может быть использован при получении живых вакцин?

1) Мутации.

2) Модификации.

Занятие 7. МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ. ФАГОЦИТОЗ, ЛИЗОЦИМ, КОМПЛЕМЕНТ. АНТИГЕНЫ И АНТИТЕЛА. ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ

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.

В организме имеется большое количество неспецифических приспособлений, которые обеспечивают определенную степень его резистентности к различным микроорганизмам (в т. ч. функции выделительных систем). Освобождение организма от микробов, продуктов их жизнедеятельности и токсинов происходит с помощью желудочно-кишечного тракта, мочевыводящих путей, потовых желез, дыхательной и других систем. Типичным примером такого рода неспецифической защитной реакции является рвота, часто наблюдаемая как при бактериальных, так и небактериальных кишечных отравлениях. При попадании в организм достаточно больших доз микробов или их токсинов нормальная физиологическая деятельность, т. е. реактивность многих органов, в том числе выделительных систем, в результате воздействия микробных антигенов на рецепторы тканей изменяется.

К неспецифическим факторам защиты организма относят фагоцитоз, лизоцим, комплемент и др. Однако главными биологическими высокоспециализированными системами, обеспечивающими видовой иммунитет, являются системы макрофагов, интерферонов, Т-цитотоксических лимфоцитов и главная система гистосовместимости.

Поэтому неспецифическую резистентность правильнее определять как видовой иммунитет, поскольку эта резистентность обеспечивается в первую очередь специализированными иммунологическими системами.

Антигены – любые вещества, содержащиеся в микроорганизмах и других клетках или выделяемые ими, которые несут признаки генетически чужеродной информации и при введении в организм вызывают развитие специфических иммунных реакций. Антигены индуцируют реакции как гуморального, так и клеточного иммунитета. Термин «антиген» употребляют очень часто, вкладывая в него двоякий смысл. Под антигенами понимают вещества, вызывающие появление антител, и вещества, реагирующие с антителами.

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.

4. Оценить ориентировочную и развернутую реакции агглютинации по типу Грубера.

5. Ознакомиться с применением иммунофлюоресцентного, иммуноферментного и радиоиммунного анализов в диагностике инфекционных болезней.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Обнаружить лизоцим в белке куриного яйца, используя тест-бактерии *Micrococcus lysodeiaticus*, подсчитать фагоцитарное число в препаратах-мазках; учесть готовую реакцию титрования комплемента, объяснить механизм.

2. Поставить ориентировочную реакцию агглютинации по типу Грубера с целью определения антигенов бактерий.

3. На демонстрационных опытах познакомиться с развернутой реакцией агглютинации по типу Грубера.

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

Основные положения. Механизмы неспецифической резистентности человека. Фагоцитоз, система комплемента, лизоцим и т. д. Антигены и антитела.

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—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.

Дополнительная литература:

Кузнецов О. Ю. Лабораторные реакции в микробиологии. — Иваново, 2009. — 86 с.

ООД по практическому применению знаний
Обнаружение лизоцима в белке куриного яйца

Операции		Состояние объекта
Лизоцим – фермент ацетилмуромидаза, 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 в две пробирки: опытную и контрольную по 1 мл	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 в течение 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. Оформить протокол, подписать у преподавателя

Серологическая идентификация чистой культуры микроорганизмов
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.	Приготовить контроль: нанести на вторую половину стекла 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

Операции	Состояние объекта
<p>6. Наблюдать за появлением зерен агглютината в каплях через 3–5 минут. 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></p>	<p>Результаты реакции агглютинации по типу Грубера. Оформить протокол и подписать у преподавателя</p>

Вопросы для самоконтроля:

1. История развития иммунологии. Открытия Л. Пастера, П. Эрлиха, И. И. Мечникова и др.
2. Инструктивные и конструктивные теории иммунитета. Современные направления иммунологии.
3. Иммунная система человека и основные ее функции. Понятия «иммунитет», «иммунологическая реактивность», «иммунный ответ».
4. Неспецифические факторы защиты организма человека. Иммунитет, его виды и формы. Клеточные и гуморальные факторы защиты.
5. Фагоцитоз, гранулоцитов и макрофагов. Современные методы определения фагоцитарной активности. Завершенный и незавершенный фагоцитоз. Опсонофагоцитарная проба.
6. Лизоцим. Механизм действия. Метод обнаружения лизоцима.
7. Общая характеристика системы комплемента и пути его активации. Механизм действия. Метод определения титра комплемента.
8. Естественные киллеры и их роль в неспецифической защите организма.
9. Факторы неспецифической противовирусной резистентности. Интерфероны, механизм действия.
10. Антигены и их свойства. Антигенная структура грамположительных и грамотрицательных бактерий и вирусов.
11. Определение понятий «антиген», «гаптен», «эпитоп», «антигенная детерминанта».
12. Механизм взаимодействия антигенов с антителами. Реакции агглютинации по типу Грубера. Агглютинирующие сыворотки.

Занятие 8. СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ

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 или реакцию Кумбса.

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

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

Цели: 1) научиться учитывать реакции связывания комплемента (РСК), ставить и учитывать реакцию агглютинации по типу Видаля, преципитации и флокуляции; 2) освоить методы применения биопрепаратов для диагностики, профилактики и лечения.

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

1. Познакомиться с постановкой и учетом реакций РСК и Кумбса.
2. Познакомиться с получением, использованием, механизмом действия биопрепаратов, применяемых для профилактики, лечения, диагностики инфекционных заболеваний.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Выполнить реакцию преципитации с целью определения видовой принадлежности крови.
2. Поставить реакцию агглютинации по типу Видаля для установления наличия антител.
3. Учесть результат диффузной реакции флокуляции, поставленной с целью определения токсигенности бактерий. Объяснить механизм.

Исходные знания. Строение и особенности структуры иммуноглобулинов разных классов.

Основные положения. Серологические реакции: агглютинация, преципитация, лизис, гемолиз и связывания комплемента. Иммунофлюоресцентный, иммуноферментный и радиоиммунный анализ в диагностике инфекционных болезней. Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция. Иммунобиологические препараты: вакцины, анатоксины, сыворотки. Иммуномодуляторы. Пробиотики.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 201—215, 283—293, 294—307.

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

Дополнительная литература:

Кузнецов О. Ю. Лабораторные реакции в микробиологии. — Иваново, 2009. — 86 с.

ООД по практическому применению знаний

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 диаметром 0,5 см		
1.	Внести 0,2–0,3 мл преципитирующей сыворотки в пробирку	Пробирка с преципитирующей сывороткой
2.	Наслоить на сыворотку 0,1–0,2 мл антигена пастеровской пипеткой медленно, по стенке, держа пробирку в наклонном положении	Пробирка с преципитирующей сывороткой и антигеном
3.	Перевести пробирку в вертикальное положение. Учесть результат через 1–2 мин	Появляется преципитат в виде белого кольца на границе между сывороткой и исследуемым антигеном при положительной реакции
4.	Оформить протокол	Результаты реакции преципитации. Подписать у преподавателя

Реакция агглютинации на примере реакции по типу Видаля

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

Операции		Состояние объекта
3.	Внести в первую пробирку (ячейку) с помощью стерильной пипетки 0,5 мл рабочего раствора исследуемой сыворотки (готовится заранее в соотношении 1:50). Полученное содержимое в пробирке (ячейке) перемешать	В первой пробирке (ячейке) объем жидкости составляет 1 мл, а раствор 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.	Внести той же пипеткой 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 контролями в термостат для созревания реакции	Пробирки находятся в термостате при температуре 37°C в течение 18–24 ч
9.	Провести визуальную оценку результатов реакции через 24 часа. <i>Положительная реакция – образование хорошо заметного агглютината (мелкодисперсного осадка). Титр реакции – 1:200 – 1:400.</i> <i>Отрицательная реакция: отсутствие агглютината (капля с сывороткой и взвесью бактерий выглядит аналогично контрольной)</i>	Регистрация изменений выполняется визуально

Вопросы для самоконтроля:

1. Реакции преципитации и флукюляции. Биологическая реакция нейтрализации Шика.
2. Реакция агглютинации по типу Видаля.
3. Реакции с одновалентными антителами: РСК, лизиса, Кумбса.
4. Реакция иммунофлюоресценции. Иммуноферментный анализ. Радиоиммунный метод.
5. Приготовление и использование диагностикумов, агглютинирующих, преципитирующих, люминесцентных сывороток.
6. Получение и назначение антитоксических сывороток. Анатоксины.
7. Получение и использование аллергенов. Механизм медленной аллергической реакции.
8. Вакцины. Требования к ним. Использование.
9. Получение и использование фагов.
10. Препараты из микробов-антагонистов.

Ситуационные задачи:

I. Студенту был задан вопрос: назовите компоненты, необходимые для постановки РСК. Получен ответ: комплемент, гемолитическая сыворотка, эритроциты барана.

- 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) Каковы компоненты, техника и механизм реакции?

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?

Занятие 9. ИТОГОВАЯ ПРОВЕРКА ЗНАНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ЗАНЯТИЯХ 1–8

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

Вопросы:

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 (μH_2) среды и методы его измерения. Способы культивирования анаэробов.
8. Размножение бактерий. Закономерность развития на искусственных питательных средах. Периодическое, глубинное и проточное культивирование.
9. Действие физических и химических факторов на микроорганизмы. Стерилизация и дезинфекция. Асептика и антисептика.
10. Способы стерилизации и дезинфекции в стоматологии. Предстерилизационная обработка материалов и оборудования в стоматологической практике.
11. Действие биологических факторов на микроорганизмы. Микробы-антагонисты, их использование в производстве антибиотиков.
12. Открытие пенициллина А. Флемингом. Получение отечественного пенициллина З. В. Ермольевой. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.
13. Механизм действия антибиотиков на микроорганизмы. Побочное действие антибиотиков. Принципы рациональной антибиотикотерапии.
14. Строение бактериального генома. Характеристика основных форм изменчивости.
15. Ненаследуемая изменчивость. Диссоциация: S-, R-, L-формы бактерий.
16. Мутации, их виды. Мутагены физические, химические, биологические.

17. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Плазмиды.
18. Бактериофаги. Взаимодействие фага с бактериальной клеткой. Умеренные и вирулентные бактериофаги. Лизогения.
19. Применение фагов в биотехнологии, микробиологии и медицине.
20. Структура и химический состав вирусов. Методы их культивирования.
21. Микрофлора организма человека и ее функции. Симбиоз и антибиоз.
22. Определение понятий «дисбиоз», «дисбактериоз». Препараты для восстановления нормальной микрофлоры.
23. Микрофлора почвы, воздуха и воды, методы ее исследования.
24. Учение об инфекционном процессе. Условия возникновения инфекционного процесса. Формы инфекции. Стадии развития и признаки инфекционной болезни.
25. Понятия патогенности и вирулентности. Факторы патогенности.
26. Сравнительная характеристика экзо- и эндотоксинов бактерий. Получение анатоксинов.
27. Виды иммунитета. Особенности противовирусного, противогрибкового иммунитета.
28. Неспецифические факторы защиты организма: кожные, слизистые и лимфатические барьеры. Фагоцитоз. Лизоцим.
29. Комплемент, его роль, структура, функции, пути активации.
30. Интерфероны, природа. Способы получения и применения.
31. Антигены: определение, свойства. Антигены бактерий, грибов, вирусов.
32. Реакции иммунитета: агглютинации, преципитации, связывания комплемента, Кумбса. Компоненты, механизм, способы постановки. Применение.
33. Реакция иммунофлюоресценции. Иммуноферментный анализ, иммуноблоттинг. Механизм, компоненты, применение.
34. Диагностикумы. Моноклональные антитела. Агглютинирующие и адсорбированные сыворотки. Получение, применение.
35. Вакцины. Определение. Классификация. Требования, предъявляемые к вакцинным препаратам. Иммунные сыворотки. Применение.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

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) Schigella sonnei
4. **Кокковыми формами микроорганизмов являются**
 - 1) Neisseria meningitidis
 - 2) Schigella 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**
 - 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. 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. Источником инфекции человек является при**
- 1) сифилисе
 - 2) легионеллезе
 - 3) бруцеллезе
 - 4) туляремии
- 14. Развитие диареи связано с действием**
- 1) ботулинического токсина
 - 2) дифтерийного токсина
 - 3) термостабильного энтеротоксина
 - 4) столбнячного токсина
 - 5) β -гемолизина
- 15. Для стерилизации сыворотки крови используют**
- 1) стерилизацию воздействием ионизирующей радиации
 - 2) стерилизацию паром под давлением
 - 3) стерилизацию сухим жаром
 - 4) фильтрование с помощью мембранных фильтров
 - 5) стерилизацию 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

- 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) противотуляремийная
- 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 анаэрозе
 - 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) содержат 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

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).**

Занятие 10. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ (СТАФИЛОКОККОВ)

Стафилококковая инфекция – собирательное понятие, объединяющее инфекционные заболевания, вызываемые стафилококками. Характеризуется гнойным воспалением любых органов и систем с тенденцией к прогрессирующему распространению, генерализации и септическому течению.

Стафилококки могут принимать участие в смешанных гнойных процессах челюстно-лицевой области, выделяться как компонент микробных ассоциаций при абсцессах, флегмонах, остеомиелитах и стоматитах.

Стафилококковые инфекции занимают ведущее положение среди внутрибольничных инфекций (ВБИ), местных и общих гнойных заболеваний. В последние годы особенно участились вспышки ВБИ стафилококковой этиологии. В стоматологических стационарах нередко встречается внутрибольничная стафилококковая больничная инфекция после хирургических вмешательств на зубочелюстной системе и придаточных пазухах носа.

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 грамположительных 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. 329—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
Взятие материала из раны проводят с помощью стерильного тампона или зонда-тампона		
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 нельзя касаться 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 (ф., и., о. больного, время забора материала, предполагаемый диагноз)	Исследуемый материал готов к доставке в лабораторию
Бактериологическое исследование гнойного отделяемого при стафилококковой инфекции		
1.	1-й день. Приготовить мазок из исследуемого материала, окрасить по Граму, микроскопировать. Произвести посев на чашки Петри с желточно-солевым агаром. Инкубировать посевы в течение 24 ч при температуре 37°C	Посевы в термостате

Операции		Состояние объекта
2.	2-й день. Учет результатов – рост непрозрачных колоний белого или золотисто-желтого цвета. Приготовить из ½ колонии препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять ½ колонии на скошенный 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, выявления плазмокоагулазы, фаготипирования, антибиотикограммы. Инкубировать посевы 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. Протокол, подписать у преподавателя

Определение вирулентности микроорганизмов
(выявление плазмокоагулазы)

Операции		Состояние объекта
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 пишущее перо. Прокалить петлю в пламени горелки, остудить	Стерильная петля
3.	Вынуть пробки из пробирок, забрать петлей культуру бактерий	Стерильная петля с 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	Пробирки с посевами – 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 работе фермента плазмокоагулазы происходит свертывание плазмы. В контроле она остается жидкой</i>	Результаты проверяются и подписываются преподавателем
----	---	---

Фаготипирование стафилококка

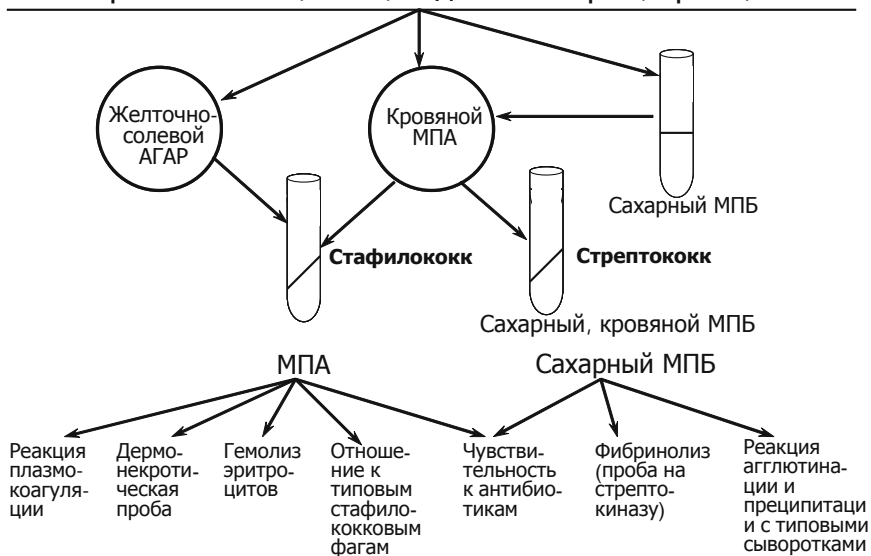
Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить испытуемую суточную бульонную культуру стафилококка	Культура стафилококка
2.	Подсушить чашки Петри с мясоептонным агаром (МПА) в термостате	Чашки Петри с МПА
3.	Засеять культуру на поверхность МПА	Чашки с посевом
4.	Разделить восковым карандашом чашку Петри на квадраты	Чашка готова для нанесения фага
5.	Нанести пастеровской пипеткой по одной капле типоспецифических фагов в каждый квадрат. Термостатировать в течение 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. 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. Токсины и ферменты патогенности.
4. Фаготипирование стафилококка. Какой практический интерес представляют стафилококки 1-й и 2-й фагогруппы?
5. Устойчивость к физическим (высушивание, воздействие УФ-лучей, высокой температуры), химическим (действие дезинфицирующих средств, сульфаниламидных препаратов) 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?

Схема микробиологической диагностики кокковых инфекций

Материал из зева, носа, отделяемое ран, кровь, гной



Дифференциальные признаки основных видов стафилококков

Признак	Вид		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Плазмокоагулаза	+	-	-
ДНКаза	+ (-)	-	-
Гемолиз	+	-	-
Золотистый пигмент	+ (-)	-	-
Сбраживание маннита	+	-	-
Гиалуронидаза	+	?	?
Фосфатаза	+	+	-
Окисление: маннита/ трегалозы	+/+	-/-	+/+
Устойчивость к новобиоцину (1,6 мкг/мл)	-	-	+

Примечание: (+) – признак положительный; (-) – признак отрицательный; (-) – признак непостоянный; ? — неизвестно

Занятие 11. 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.

Большую часть болезней стрептококковой этиологии у человека вызывает *S. pyogenes* (группа А). Этот вид стрептококков может спровоцировать инвазии (типичное проявление – ангина) и специфические интоксикации (скарлатина); стрептококки *S. agalactiae* (группа В) – эрозивный стоматит.

Стрептококки вызывают заеды, преимущественно у детей и пожилых людей, пользующихся съемными протезами. У детей возникновению заболевания способствует постоянная мацерация углов рта слюной, а при использовании протезов у пожилых лиц – изменение (снижение) прикуса и образование глубокой складки в углах рта. В обоих случаях создаются «входные ворота» для стрептококков в виде эрозии в углу рта, которая превращается в кровоточащую рану, покрывающуюся кровянисто-гнойной коркой.

Цель: научиться выделять культуру стрептококка из организма больного, идентифицировать, определить вирулентность, доказать 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 Ленсфильду 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 темы. 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—349.
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.

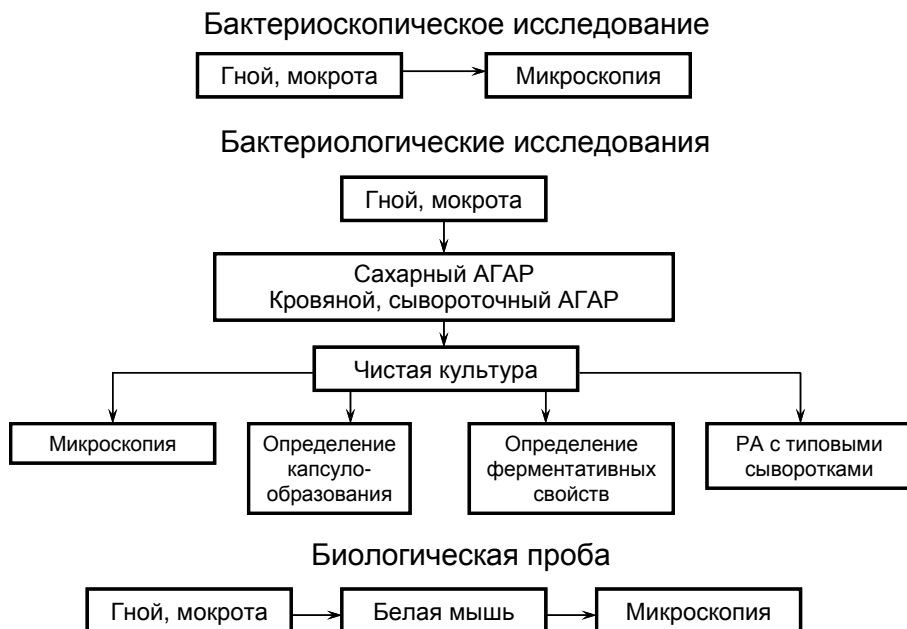
ООД по практическому применению знаний

Микробиологическое исследование слизи из зева с целью выделения и идентификации стрептококков

Операции		Состояние объекта
Пробы для бактериологического исследования при инфекции верхних дыхательных путей (слизистой глотки)		
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 с миндалин, поочередно с правой миндалины и правой небной дуги и левой миндалины и левой небной дуги (<i>при тонзиллитах</i>). Тампон не должен касаться язы-	Материал собран тампоном

Операции		Состояние объекта
	<i>ка и слизистой оболочки полости рта</i>	
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
Бактериологическое исследование слизи при стрептококковой инфекции		
1.	1-й день. Приготовить мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Провести посев материала в 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 ½ колонии и из бульона препараты-мазки, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять ½ 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

Схема микробиологической диагностики пневмококковых инфекций



Вопросы для самоконтроля:

1. Таксономия и классификация стрептококков. Суть 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.

Занятие 12. 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 диареи, но и поражения любых органов и тканей: мочевыводящих путей, бактериемии, менингиты, респираторные инфекции, особенно у новорожденных.

Шигеллез (бактериальная дизентерия) – инфекционное заболевание, вызываемое бактериями рода *Shigella*, протекающая с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки. Дизентерия как у детей, так и у взрослых составляет значительную долю среди острых кишечных заболеваний.

Цель: 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 ½ изолированной колонии препараты-мазки, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять ½ 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	Результаты идентификации шигелл. Оформить протокол, подписать у преподавателя

Схема микробиологической диагностики колиэнтеритов



Вопросы для самоконтроля:

1. Проблема кишечных инфекций: микробиологические и эпидемические 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. Эпидемическая цепь и схема микробиологической диагностики эшерихиозов. Этиотропная терапия.
5. Эпидемическая 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. Иммуитет. Патогенез дизентерии.

Занятие 13. 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 и протекающие с увеличением печени, селезенки и часто с 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 с 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 усвоению 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 Видала 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—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

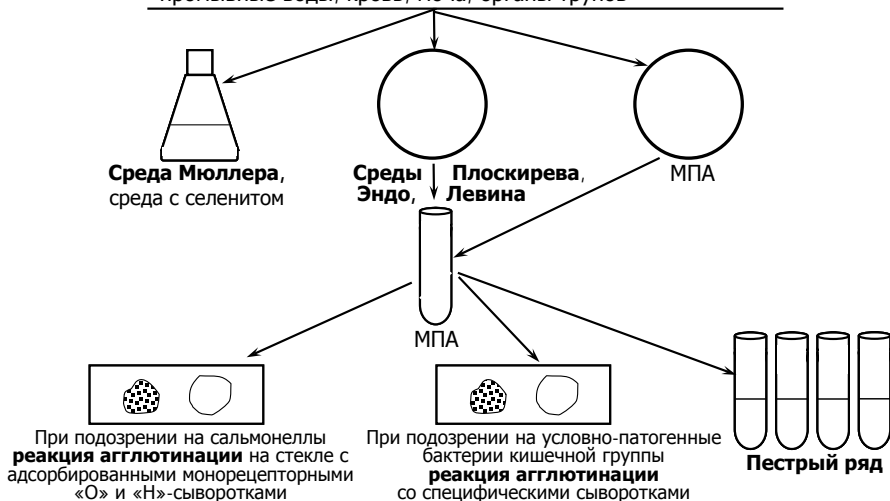
Операции		Состояние объекта
Для исследования забирают кровь из периферических вен в стерильный вакуумный шприц (10–15 мл – у взрослых, 3–5 мл – у детей)		
1.	1-й день. Провести посев крови на среду накопления: 5–10 мл крови внести в колбу с 50–100 мл селенитовой среды. Инкубировать в течение 24 ч при 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 ½ колонии препарат-мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Пересеять ½ колонии на скошенный МПА. Инкубировать 24 ч при T 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 с поливалентными О-сыворотками и монорецепторными О- и Н-сыворотками	Результаты идентификации сальмонелл. Протокол подписать у преподавателя

Реакция агглютинации на примере реакции по типу Видаля (см. задание 8).

Схема микробиологической диагностики пищевых токсикоинфекций, вызванных сальмонеллами

А. Бактериологический метод

Материал: Остатки пищи, смывы с предметов, испражнения, рвотные массы, промывные воды, кровь, моча, органы трупов



Б. Серологический метод

Реакция агглютинации с парными сыворотками больного по типу реакции Видала

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.

Занятие 14. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ И КОКЛЮША

Дифтерия – острая инфекционная болезнь, вызываемая *Corynebacterium diphtheriae* (от греч. *coryne* – булава, *diphthera* – пленка), характеризующаяся фибринозным воспалением в зева, гортани, реже – в других органах и явлениями интоксикации с поражением преимущественно сердечно-сосудистой и нервной систем.

Коклюш – острая инфекционная болезнь, вызываемая *Bordetella pertussis* (от лат. *pertussis* – кашель), характеризующаяся поражением верхних дыхательных путей, приступами спазматического кашля; наблюдается преимущественно у детей дошкольного возраста.

Цель: 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 и ложных дифтерийных бактерий.
2. Рассмотреть патогенез и основы специфической профилактики дифтерии.
3. Ознакомиться с морфологическими и культуральными свойствами бордетелл, дифференциацией возбудителей коклюша и паракоклюша.

Практические навыки, подлежащие усвоению 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 неправильной формы палочки 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: учеб. 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.

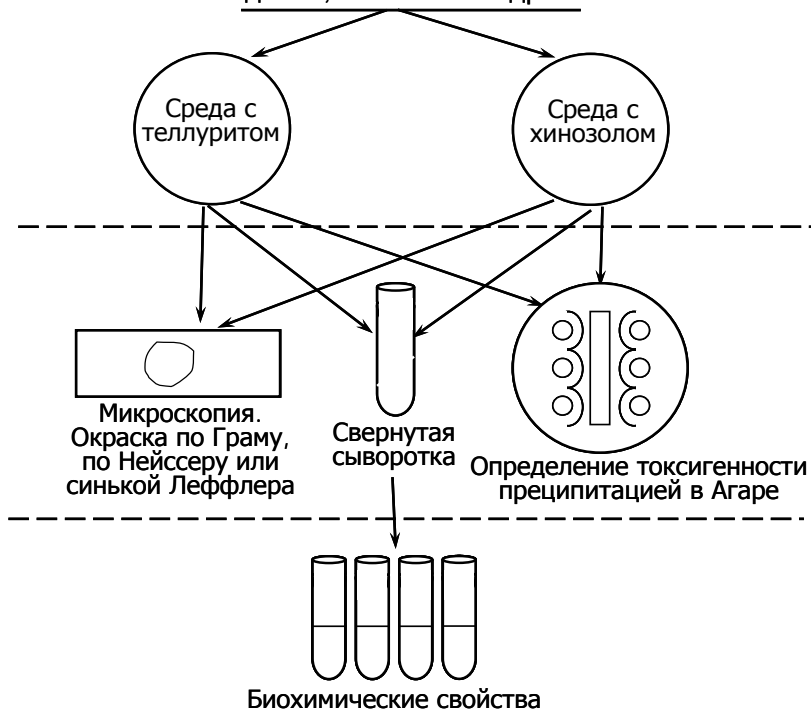
ООД по практическому применению знаний

Проведение окраски зерен волютина по методу Нейссера для микробиологической диагностики дифтерии

Операции	Состояние объекта
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 докрашен везувином или хризоидином
5. Промыть мазок водой, высушить на воздухе или с помощью 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

Схема микробиологической диагностики дифтерии

Материал: слизь и воспалительный налет из зева, носа, миндалин, носоглотки и др.



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? Патогенез дифтерии. Антитоксический иммунитет. Бактерионосительство. Проявления в полости рта.
4. Схема бактериологической диагностики. Какой материал забирается для исследования? Специфическое лечение и профилактика.
5. Бордетеллы. Таксономия, характеристика.
6. Возбудитель коклюша. Морфологические, культуральные, антигенные свойства. Патогенность. Патогенез коклюша. Иммунитет.
7. Дифференциация возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхосептикоза. Специфическое лечение и профилактика.

Занятие 15. 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 (*M. leprae*) – возбудители 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 регистрируется 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», от англ. «environmental mycobacteria»), включают более 100 видов, широко распространены в природе. Микобактерии – оппортунисты, объединенные в 4 группы на основании продукции ими желтого или оранжевого пигмента и скорости роста. Они вызывают лимфадениты, поражения кожи, легких и диссеминированные инфекции, особенно у больных СПИДом.

Актиномицеты населяют преимущественно зубной налет и играют роль в патогенезе пародонтита и гингивита. Определяются при хронических неспецифических воспалительных процессах и актиномикозе мягких тканей, а также при остеомиелите челюстно-лицевой области. Находятся в корневом канале и периодонте при периодонтитах.

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 – возбудителей актиномикоза и болезни пародонта.

Практические навыки, подлежащие усвоению 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 готового препарата-мазка из мокроты по способу Циля – Нельсена 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.
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. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология. — М. : ГЭОТАР-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

	Операции	Состояние объекта
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>

Операции		Состояние объекта
3.	Снять фильтровальную бумагу, промыть мазок водой. <i>Все бактерии окрашены в красный цвет</i>	Препарат-мазок промыт водой
4.	Нанести на препарат 5%-ный раствор серной кислоты на 1 мин. <i>Некислотоустойчивые бактерии обесцвечиваются</i>	Препарат-мазок с 5%-ным раствором серной кислоты
5.	Промыть препарат-мазок водой	Препарат промыт водой
6.	Нанести на препарат раствор метиленового синего на 3–5 мин. <i>Некислотоустойчивые бактерии окрашиваются в синий цвет</i>	Препарат-мазок с метиленовым синим
7.	Промыть препарат водой. Высушить препарат-мазок на воздухе или с помощью фильтровальной бумаги	Препарат-мазок готов для микроскопирования
8.	Микроскопировать окрашенный препарат с иммерсионной системой. <i>Кислотоустойчивые бактерии красного цвета, некислотоустойчивые – синего</i>	Результаты окраски кислотоустойчивых бактерий по методу Циля – Нельсена
9.	Оформить результаты в протоколе	Результаты подписываются преподавателем

Градация результатов микроскопического исследования при окраске по Цилю – Нельсену

Количество кислотоустойчивых микробактерий	Число иммерсионных полей зрения	Ответ	
		Качественный	Количественный
Отсутствуют	300	Отрицательный	0
1-3	300	Сомнительный	Рекомендуется повторное исследование
От 1 до 9	100	Положительный	Единичные в препарате с указанием числа МБ
От 10 до 99	100	Положительный	Единичные в поле зрения (1+)
От 1 до 10	1	Положительный	Умеренное количество (2+)
Больше 10	1	Положительный	Значительное количество (3+)

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. Изменчивость микобактерий туберкулеза. L-формы.
5. Генетика возбудителя туберкулеза. Вакцинный штамм ВЦЖ.
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.

Занятие 16. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ 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 материал и направить его 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 усвоению в ходе занятия:

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

2. Разобрать, как правильно готовить препараты «толстая» и «раздавленная» капля крови для обнаружения боррелий, установить сроки, в которые необходимо производить забор крови для исследования у больного.

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, кампило-, хеликобактерии, спириллы-волинеллы). Риккетсии.

Основная литература:

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

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

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. Скриниченко Н. В., Иванова Г. П. Клещевые инфекции у детей : руководство для врачей. — М. : Медицина, 2008. — 424 с.

2. Подбаранов В. М. Возбудители болезней человека у животных и клещей. — М. : Медицина, 2004. — 224 с.

3. 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-мазка из риккетсий Провачека разведенным карболовым фуксином

Операции		Состояние объекта
1.	Окрасить фиксированный препарат-мазок разведенным карболовым фуксином (в течение 1–2 мин)	Препарат-мазок фиолетового цвета

Операции		Состояние объекта
2.	Промыть препарат водой	Препарат-мазок промыт
3.	Высушить препарат на воздухе или с помощью 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 проверяются и подписываются преподавателем

Классификация боррелий

Заболевание	Вид возбудителя	Переносчик	Географическое распространение
Эпидемический возвратный тиф Клещевые боррелиозы	<i>B. recurrentis</i>	<i>Pediculus vestimentis</i> , реже – <i>P. capitatus</i>	Ранее встречался повсеместно. Сейчас практически отсутствует
	<i>B. persica</i>	<i>Alectorobius papillipes</i> (<i>Ornithodoros papillipes</i>)	Центральная, Средняя Азия и Средиземноморье
	<i>B. caucasica</i>	<i>A. verrucosus</i> и <i>A. alactagilis</i>	Кавказ, Закавказье и Украина
	<i>B. hermsii</i>	<i>A. hermsii</i>	Запад США и Канада
	<i>B. parkeri</i>	<i>A. parkeri</i>	Запад США
	<i>B. turicatae</i>	<i>A. turicatae</i>	Запад США и Мексика
	<i>B. hispanica</i>	<i>A. erraticus</i>	Северная Африка и Средиземноморье
	<i>B. duttonii</i>	<i>A. moubata</i>	Центральная и Южная Африка
	<i>B. venezuelensis</i>	<i>A. rudis</i>	Центральная и север Южной Америки
	<i>B. mazzottii</i> <i>B. latyschewii</i>	<i>A. talaje</i> <i>A. tartakovskyi</i>	Мексика и Гватемала Средняя Азия и Казахстан
Болезнь Лайма	<i>B. burgdorferi</i>	В России – <i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Северная Америка, Евразия

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. Иммуниет. Микробиологическая диагностика. Неспецифическая профилактика. Лечение.
3. Характеристика и дифференциация основных свойств лептоспир. Патогенность для человека и животных. Патогенез. Иммуниет. 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. Иммуниет. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и терапия.

Занятие 17. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ГРИПП И ДРУГИЕ ОРВИ, КОРЬ, ПАРОТИТ, КРАСНУХА, ЭНТЕРОВИРУСЫ, ВИРУСЫ ГЕПАТИТОВ А И Е)

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

Другие ОРВИ – вызывают более 150 разновидностей вирусов.

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

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

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

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

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

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*.

В программу для студентов стоматологического факультета включено изучение следующих групп вирусов:

- ДНК-геномные вирусы (герпеса, опоясывающего лишая, гепатита В);
- РНК-геномные вирусы (гриппа, везикулярного стоматита, ящура, энтеровирусы);
- онкогенные вирусы (ретровирусы и вирусы гепатита В, С);
- вириды и прионы – возбудители медленных вирусных инфекций.

Цели: 1) научиться серологической диагностике гриппа и полиомиелита; 2) овладеть умением оценивать риск заражения возбудителями вирусных кровяных 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 и энтеровирусных инфекциях.
2. Рассмотреть особенности забора материала для исследования, основные приемы лабораторной диагностики при этих инфекциях.
3. Ознакомиться с препаратами для диагностики, профилактики и терапии вирусных инфекций.

Практические навыки, подлежащие усвоению 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.
3. Рассмотреть результаты цветной реакции (Солка) с сывороткой больного полиомиелитом. Оценить результат и сделать заключение.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. РНК-геномные вирусы (гриппа, везикулярного стоматита, ВИЧ, энтеровирусы).

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 522—526, 544—547, 560—574, 583—584, 587—600, 606—610.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практик. медицина, 2009. — С. 394—402.
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

РТГА со смывом из носоглотки больного с целью типирования вируса гриппа (см. занятие 5).

Острые респираторные вирусные инфекции

РНК-вирусы:			
<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus</i>	Грипп А,В,С	Трахеит
<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Paramyxovirus</i>	Парагрипп типов 1–4	Ларингит
	<i>Pneumovirus</i>	РС-вирус	Бронхит, бронхиолит
	<i>Morbillivirus</i>	Вирус кори	Ринофарингит
<i>Picornaviridae</i>	<i>Rhinovirus C</i>	Риновирус типов 1–113	Ринит
	<i>Enterovirus</i>	Вирусы Коксаки, ЕСНО	Ринофарингит
<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronavirus</i>	Коронавирус человека, млекопитающих, птиц	Ринит
<i>Reoviridae</i>	<i>Reovirus</i>	Реовирусы человека	Ринофарингит
	<i>Rotavirus</i>	Ротавирусы человека	Ларингит
ДНК-вирусы:			
<i>Adenoviridae</i>	<i>Mastadenovirus</i>	Аденовирусы человека и млекопитающих	Фаринготонзиллит
<i>Herpetoviridae</i>			
<i>a-herpesviridae</i> <i>b-herpesviridae</i> <i>Gammaherpesviridae</i>	<i>Simplexvirus</i> <i>Cytomegalovirus</i> <i>Lymphocryptovirus</i>	Вирусы герпеса HSV 1, 2, цитомегаловирус человека, вирус Эпштейна – Барр	Вторичная пневмония

Вопросы для самоконтроля:

1. Классификация вирусов гриппа. Особенности генома. Характеристика антигенов. Патогенез гриппа. Роль персистенции. Иммуитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и лечение гриппа.
2. Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЕСНО, энтеровирусы 68–71. Характеристика вирионов. Антигены. Культивирование. Резистентность. Патогенез. Иммуитет. Специфическая профилактика и терапия энтеровирусных инфекций.
3. Вирус кори, биологические свойства. Патогенез заболевания. Иммуитет и специфическая профилактика.
4. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии человека. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
5. Вирусы гепатитов А, Е. Биологические свойства. Патогенез заболевания. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций.

Занятие 18. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ГЕПАТИТЫ В, С, D, ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ, БЕШЕНСТВО, ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ)

Парентеральные гепатиты – антропонозные инфекционные болезни с длительным течением, вирусоносительством, часто заканчивающиеся острой печеночной недостаточностью, а хронический злокачественный гепатит – циррозом 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»).

Бешенство (rabies; син. водобоязнь, гидрофобия) – инфекционная болезнь, развивающаяся после укуса инфицированным животным или попадания в рану его слюны. Характеризуется поражением ЦНС с развитием симптомов возбуждения, параличом глотательной и дыхательной мускулатуры, летальным исходом.

Среди длительно персистирующих часто встречается давно известная герпетическая инфекция (от греч. herpes – расплзаться). Она характеризуется поражением кожи, слизистых оболочек, ЦНС, внутренних органов, пожизненным носительством и рецидивами.

Цель: научиться оценивать риск заражения возбудителями вирусных кровяных инфекций при медицинских манипуляциях, микроскопической диагностике бешенства и герпетической инфекции.

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.
3. Ознакомиться с особенностями этиопатогенеза, эпидемической цепи и микроскопической диагностики при бешенстве и герпетической инфекции.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационном препарате ознакомиться с микроскопической диагностикой бешенства.
2. Изучить биопрепараты для профилактики и терапии вирусных кровяных инфекций.
3. Поставить реакцию торможения гемагглютинации для идентификации вирусов.
4. Из демонстраций 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 (герпеса, опоясывающего лишая, гепатита В).

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 571—574, 576—581, 589—600, 610—611.

2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практик. медицина, 2009. — С. 405—417.

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. ВИЧ инфекция. Клиника, диагностика, лечение / В. И. Покровский [и др.]. — М. : ГОЭТАР-Медиа, 2006. — 486 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.

ООД по практическому применению знаний

Реакция торможения гемагглютинации с целью идентификации вирусов (см. занятие 5).

Вопросы для самоконтроля:

1. Вирус гепатита В. Структура вириона. Антигены: Н_{bs}, Н_{bc}, Н_{be}, Н_{bх}. Резистентность. Культивирование. Пути передачи. Особенности патогенеза. Персистенция. Иммунитет. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика. Возбудители гепатитов С, D.

2. Вирус иммунодефицита человека. Морфология. Изменчивость. Резистентность. Культивирование. Клетки-мишени в организме. Стадии взаимодействия вируса с чувствительными клетками. Патогенез ВИЧ-инфекции. Иммунитет. Лабораторная диагностика. Лечение. Профилактика. СПИД-ассоциированные инфекции.

3. Герпесвирусы. Классификация, структура вирионов, культивирование, резистентность. ВПГ: серотипы 1 и 2. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и лечение. Опасность инфицирования в стоматологическом кабинете.

Занятие 19. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

Учитывая, что спектр возбудителей пародонтита, стоматитов, одонтогенной инфекции чрезвычайно разнообразен, а чувствительность к антибиотикам сильно варьируется, своевременное выявление возбудителя и его чувствительности к антибактериальным препаратам имеет первостепенное значение в купировании обострения заболевания. Особенно важно это при агрессивных быстропрогрессирующих формах.

Возбудители заболеваний челюстно-лицевой области, как правило, принимают участие в развитии ряда патологий в виде ассоциации из трех и более видов. Этим определяются особенности лабораторной диагностики и профилактики в стоматологии.

Микроскопическое исследование позволяет:

во-первых, при микроскопии материала зубной биопленки в неокрашенном состоянии (в темном поле зрения) установить преобладание нитевидных и подвижных извитых форм над мелкими кокковыми;

во-вторых, в фиксированном препарате при окраске по Граму установить преобладание грамтрицательной флоры, преимущественно нитевидных, мицелиальных и извитых форм над грамположительными кокковыми.

Оба микроскопических признака означают, что у пациента наблюдается существенное ухудшение гигиенического состояния тканей пародонта и зубного ряда.

Бактериологическое исследование. Кратность бактериологического исследования должна соответствовать клинической симптоматике и этапам течения инфекционной болезни (исследование необходимо проводить как минимум до и после антибактериального и других видов лечения).

Выделение чистой культуры с последующей идентификацией возбудителя и определением его чувствительности к антибиотикам является весьма желательным в диагностике пародонтита и выяснении его этиологии. Оно обязательно должно быть количественным и выполняться с соблюдением требований анаэробной транспортировки исследуемого материала и анаэробного культивирования.

Молекулярно-биологическое исследование. Применение ПЦР для выделения основных пародонтопатогенных видов бактерий и грибов рода Кандида (в случае кандидассоциированного пародонтита) позволяет быстро определить спектр возбудителей и подобрать антимикробную терапию с учетом рода и вида возбудителя.

Постановка окончательного этиологического диагноза. Окончательный диагноз ставится по данным оценки стоматологического статуса, но этиология имеет принципиальное значение для назначения лечения.

Необходимо помнить, что нарушение микроэкологии ротовой полости развивается чаще всего как следствие заболеваний при назначении антибиотиков, химиотерапевтических средств и др. воздействий, которые создают условия для формирования дисмикробиоза.

Цель: научиться определять этиологически значимый ассоциант в исследуемом материале от больного по подсчету КОЕ/мл патологического субстрата и проводить микробиологическую диагностику.

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

1. Ознакомиться с особенностями лабораторной диагностики в стоматологии (микроскопическими, микробиологическими, серологическими и др.).
2. Рассмотреть этиологию, патогенез, методы диагностики, профилактики и лечения нарушений микроэкологии ротовой полости.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. Провести микробиологическую диагностику: приготовить мазки из исследуемого материала, сделать посев на питательные среды.
2. Определить этиологически значимый ассоциант по подсчету КОЕ/мл патологического субстрата.
3. Обобщить пройденный теоретический материал и практические навыки лабораторной диагностики в стоматологии.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии (микроскопический, бактериологический, молекулярно-биологический, прочие методы лабораторного и экспериментального исследования – изучение адгезии микробов к стоматологическим материалам и др.).

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 667—671.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 474—482.

ООД по практическому применению знаний

Проведение микробиологической диагностики: приготовление мазка из исследуемого материала, посев на питательные среды (см. занятия 10–12).

**Определение этиологически значимого ассоцианта
по подсчету КОЕ/мл субстрата**

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить препарат-мазок из исследуемого материала, окрасить по Граму, микроскопировать	Препарат микроскопирован (Гр+ и Гр- бактерии)
2.	Приготовить раствор исследуемого материала до 10^{-4} стерильным физиологическим раствором; сделать посев из растворов 10^{-2} и 10^{-4} на чашки Петри со средами: ЖСА, кровяной агар, Эндо и Сабуро. Инкубировать при 37°C 24 ч	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 при 37°C 24 ч	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 при 37°C 24 ч	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. Протокол подписать преподавателем	Определен этиологически значимый ассоциант по подсчету КОЕ/мл субстрата.

Вопросы для самоконтроля:

1. Биотопы полости рта. Симбиоз микробных ассоциаций полости рта
2. Стабилизирующая и агрессивная микрофлора полости рта.
3. Индекс экологической значимости.
4. Ценотипы, их характеристика.
5. Критерии возбудителей болезней для условно-патогенных микробов.
6. Особенности забора исследуемого материала в зависимости от биотопа.
7. Значимость для постановки диагноза качественной и количественной оценки в бактериологическом анализе.
8. Питательные среды для изучения орального микробиоценоза.

Занятие 20. МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА. ЗУБНОЙ НАЛЕТ И ЕГО ИЗУЧЕНИЕ. КАРИЕСОГЕННАЯ МИКРОФЛОРА

Совокупность микробных биоценозов на слизистых оболочках открытых полостей человека составляет его нормальную микрофлору, своеобразную защитную биопленку пограничных тканей. Снижение защитных сил организма, длительное применение антибиотиков и др. может привести к нарушению нормального соотношения микробных видов, составляющих микробиоценоз полости рта.

Микробная флора полости рта начинает формироваться сразу после рождения ребенка, и количественные колебания резидентов зависят от многих условий: времени забора материала, диеты, проведения гигиенических процедур и т. д. и в том числе от способа обработки (гомогенизации) материала и метода его изучения.

Согласно современным представлениям, зубная бляшка является типичным вариантом биопленки – симбионтного сообщества микробных видов, формирующегося в условиях текучих жидких сред. Количественные и качественные нарушения в составе симбионтов данного биотопа, нарушения их взаимодействия с макроорганизмом имеют решающее значение в возникновении таких важнейших нозологических форм, как кариес зубов и пародонтит.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом или металлическим шпателем с последующим взвешиванием на аналитических весах. Затем проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования.

При неправильной и нерегулярной чистке зубов бляшка обладает отрицательными свойствами с точки зрения гигиенического состояния полости рта. В ее составе резко увеличивается количество грамотрицательных облигатно-анаэробных бактерий – бактероидов, фузобактерий, извитых форм, а также нарастает количество актиномицетов, микроаэрофильных стрептококков и пептострептококков и энтерококков. В избытке могут появляться кластридии и вирулентные представители бактероидов, превотелл, порфиромонад и актинобацилл. Стрептококки приобретают возрастающее значение в развитии инфекционно-аллергических и гнойных заболеваний слизистых оболочек, кариеса.

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

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

1. Оценить состав микрофлоры слизистых ротовой полости и налета зуба.
2. Ознакомиться с основными биотопами полости рта (слизистой оболочкой, спинкой языка, десневой борозды, ротовой жидкости, зубного налёта) и особенностями состава микрофлоры.
3. Изучить состав микрофлоры при кариесе зубов.
4. Научиться давать характеристику основных препаратов, применяемых для специфической профилактики и лечения кариеса, объяснять особенности их применения и механизм действия.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах ознакомиться со свойствами кариесогенной микрофлоры.
2. Выполнить забор зубного налета, приготовить препарат-мазок и окрасить по Граму. Оценить состав микрофлоры, описать, зарисовать.
3. Провести микробиологическое исследование патологического материала с целью выделения и идентификации кариесогенной микрофлоры.
4. Выделить чистую культуру стрептококка и провести серологическую идентификацию. Сделать заключение. Результаты запротоколировать.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Микрoэкология полости рта. Основные биотопы полости рта (биоплёнка слизистой оболочки полости рта, биоплёнка языка, протоки слюнных желез и слюна, десневой желобок и десневая жидкость, ротовая жидкость – смешанная слюна, биоплёнка зубов – зубной налёт, зубная бляшка) и методы их исследования. Факторы, способствующие и препятствующие микробной колонизации полости рта. Формирование микробной флоры полости рта в процессе жизни. Микробная флора и иммунные процессы при кариесе зубов. Характеристика кариесогенной микрофлоры. Биоплёнка зуба и патогенез кариеса зубов. Экспериментальные модели развития кариеса зубов. Иммунология кариеса зубов и перспективы создания вакцины.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 685—689.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практик. медицина, 2009. — С. 465—471, 483—487.
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.

Выполнение забора зубного налета, приготовление препарата-мазка

Операции	Состояние объекта
<i>Забор материала необходимо проводить натоцкак 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, микроскопировать	Результаты подписываются преподавателем

Проведение микробиологического исследования патологического материала с целью выделения и идентификации кариесогенной микрофлоры (см. занятие 19).

Выделение чистой культуры стрептококка и серологическая идентификация со специфическими сыворотками (см. занятие 11).

Вопросы для самоконтроля:

1. Микробный пейзаж полости рта здоровых людей. Основные биотопы полости рта (слизистой оболочки, спинки языка, десневой борозды, ротовой жидкости, зубного налёта).
2. Основные представители стабилизирующих видов: стрептококки «сангвис», «митис», «саливариус», вейлонеллы и нейссерии, корине-, лактобактерии.
3. Характеристика нормоценоза зубного налета. Механизмы образования зубного налета. Адгезия и коагрегация бактерий. Роль биосинтеза гликанов.
4. Стадии кариеса зубов (стадия пятен, поверхностный кариес, средний кариес – эмаль + дентин, глубокий кариес – глубокий дентин).
5. Стрептококки – ведущие представители кариесогенной флоры. Идентификация.
6. Другие виды микрофлоры, участвующие в кариесе, в том числе лактобактерии. Свойства, идентификация.
7. Факторы, способствующие развитию кариеса. Кариограмма.
8. Вейлонеллы и другие антагонисты кариесогенных бактерий.

Занятие 21. ИЗУЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ ГНОЙНОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области могут иметь одонтогенное или неодонтогенное происхождение. Причиной неодонтогенных абсцессов и флегмон (например, после мелких ранений) чаще являются *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes*.

Одонтогенным воспалением называется такой воспалительный процесс, который непосредственно связан с тканями, находящимися внутри и вокруг зуба. Кариозный процесс создает возможность попадания микробов через дентинные каналы в пульпу, что приводит к развитию очагового, а затем разлитого (диффузного) пульпита. Дальнейшее распространение микробов и продуктов их жизнедеятельности вызывает развитие периодонтита, а затем воспалительный процесс распространяется на надкостницу – возникает периостит, а затем и остеомиелит. Вовлечение в воспалительный процесс мягких тканей приводит к возникновению околочелюстных абсцессов и флегмон. При одонтогенных абсцессах и флегмонах микрофлора более разнообразна: пептострептококки, бактероиды, актиномицеты, фузобактерии. У ослабленных больных, при сахарном диабете обнаруживаются энтеробактерии. Грамотрицательные бактерии, приобретая различные факторы вирулентности, устойчивость к действию факторов внешней среды, резистентность к антибиотикам и сульфаниламидным препаратам, представляют большую опасность для ослабленных детей и взрослых с иммунодефицитом.

Выделяют локализованные (пульпит, периодонтит, альвеолит, абсцесс) и прогрессирующие (флегмоны, остеомиелит, сепсис) формы одонтогенных процессов.

Цель: научиться проводить лабораторную диагностику при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области, вызванных грамотрицательными бактериями, и доказывать их этиологическую роль.

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

1. Ознакомиться на демонстрационных препаратах и посевах с морфологическими и культуральными свойствами грамотрицательных бактерий: протеом, клебсиеллой, сerratией, псевдомонас.

2. Изучить этиопатогенез, особенности лабораторной диагностики, профилактики и лечения воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, вызванных этими микроорганизмами.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться со свойствами возбудителей воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области: протей, клебсиелл, серрации, псевдомонас.
2. Провести микробиологическое исследование гноя из очага поражения. Доказать этиологическую роль выделенных Gr– бактерий.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Микробная флора и иммунные процессы при одонтогенной инфекции. Характеристика возбудителей одонтогенной инфекции и актиномикоза. Возбудители, патогенез и иммунные процессы при одонтогенной инфекции.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 687—690.
2. Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 487—491.
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

Пробы для бактериологического исследования гнойного отделяемого из очага поражения (см. занятие 10).

Проведение доказательства этиологической роли выделенных грамотрицательных бактерий (см. занятие 19).

Вопросы для самоконтроля:

1. Этиология неодонтогенной и одонтогенной воспалительной инфекции челюстно-лицевой области.
2. Локализация неодонтогенной и одонтогенной воспалительной инфекции.
3. Наиболее часто встречающиеся возбудители неодонтогенной воспалительной инфекции.
4. Одонтогенная инфекция челюстно-лицевой области. Группы анаэробных стрептококков и бактероидов. Аэробные и анаэробные актиномицеты.
5. Микробиологическая диагностика неодонтогенной и одонтогенной воспалительной инфекции.
6. Лечение неодонтогенной и одонтогенной воспалительной инфекции.

Занятие 22. ПАРОДОНТОПАТОГЕННАЯ МИКРОФЛОРА. МЕТОДЫ ЕЕ ИЗУЧЕНИЯ ПРИ БОЛЕЗНЯХ ПАРОДОНТА

Воспалительные заболевания пародонта (гингивит и пародонтит) широко распространены среди населения (свыше 90% после 40 лет) и являются ведущей причиной потери зубов у большинства взрослых.

Микроорганизмы, выделяемые при заболеваниях пародонта, обладают ярко выраженными признаками патогенности, а также антибиотикорезистентностью. Велика роль стафилококков, стрептококков и бактериоидов, которые занимают ведущее положение среди местных и общих гнойных заболеваний, обуславливают состояние хронического воспаления, поддерживают течение ревматизма, септического эндокардита, заболеваний почек и других органов.

Проведение бактериологического исследования с последующей идентификацией возбудителя и определением его чувствительности к антибиотикам является «золотым стандартом» в диагностике пародонтита и выяснении его этиологического варианта. Оно обязательно должно быть количественным и выполняться с соблюдением требований анаэробной транспортировки (транспортные системы Стюарта, Амиса, тиогликолевые) и анаэробного культивирования (5%-ный кровяной агар с гемином и менадионом).

Цель: научиться проводить лабораторную диагностику при пародонтогенной инфекции.

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

1. Ознакомиться с особенностями морфологических, культуральных и биологических свойств пародонтальной микрофлоры.
2. Рассмотреть этиопатогенез заболеваний пародонта, 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 пародонтальной микрофлоры.
2. Провести микробиологическое исследование патологического материала и определить чувствительность выделенной микрофлоры к антибиотикам.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Микробная флора и иммунные процессы при заболеваниях пародонта. Характеристика пародонтопатогенной флоры. Возбудители и патогенез гингивита и пародонтита. Иммунные явления при заболеваниях пародонта.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 687—690.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 491—497.
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

Взятие исследуемого материала от больного (пробы при инфекции десны, периодонтальные, периапикальные и стоматиты Винсента)*

Операции		Состояние объекта
1.	Очистить десны, десневые карманы и полностью поверхность зубов	Исследуемый объект подготовлен для взятия пробы
2.	Собрать инфицированный субгингивальный материал, используя специальный крючок (скалер)	Исследуемый материал собран с соблюдением мер, предупреждающих его контаминацию
3.	Перенести пробу в емкость с транспортной средой для анаэробов или в емкость с редуцированной тиогликолевой средой	Емкость с исследуемым материалом и средой
4.	Плотно закрыть емкость стерильной резиновой пробкой и направить материал в лабораторию	Емкость с исследуемым материалом готова к транспортировке в лабораторию
5.	Параллельно приготовить мазки из исследуемого материала на чистом обезжиренном стекле и направить в лабораторию	Готовые мазки. Результаты подписываются преподавателем

*Примечание.** – Согласно методическим указаниям ТУ 4.2.2039-0.4.2 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

Проведение микробиологического исследования патологического материала и определение чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам (см. занятие 19).

Вопросы для самоконтроля:

1. Этиология пародонтогенной инфекции.
2. Локализация пародонтогенной инфекции.
3. Микрофлора при болезнях пародонта. Пародонтопатогенные виды микробов: превотеллы, порфиромонады, актинобациллы, трепонемы. Роль актиномицетов в развитии гингивита и пародонтита.
4. Микробиологическая диагностика пародонтогенной инфекции.
5. Лечение пародонтогенной инфекции.

Ситуационные задачи:

I. Студенту задали вопрос: «Перечислите пародонтопатогенные микроорганизмы и назовите утверждения, справедливые для заболеваний пародонта». Был получен ответ:

1) значительно увеличивается количество бактериоидов при формировании зубодесневого кармана;

2) стафилококки играют важную роль в развитии заболеваний пародонта.

II. Выберите положения, объясняющие роль микроорганизмов при заболеваниях пародонта:

1) десневая жидкость обеспечивает питательными веществами пародонтопатогенные бактерии;

2) щелочная рН десневой жидкости способствует селективной колонизации бактериоидов в зубодесневом кармане;

3) отрицательные значения окислительно-восстановительного потенциала приводят к быстрому размножению облигатных неспорообразующих анаэробов;

4) процессы коагрегации бактерий имеют значение при заболеваниях тканей пародонта;

5) длительное пребывание пародонтопатогенных бактерий в зубодесневых карманах оказывает влияние на клеточный и гуморальный иммунитет.

III. Выберите из перечисленных микроорганизмов, выделенных у больного из зубодесневого кармана, пародонтопатогенных возбудителей:

1) *Porphyromonas gingivalis*.

2) *Prevotella intermedia*.

3) *Tannerella forsythensis*.

4) *Veillonella parvula*.

5) *Leptotrichia buccalis*.

Занятие 23. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТОМАТИТОВ (ИНФЕКЦИОННЫХ И ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ). МИКРОФЛОРА ПРИ ПРОТЕЗИРОВАНИИ ЗУБОВ

Стоматит – воспаление слизистой оболочки полости рта, которое может развиваться как первичная инфекционная болезнь, вызываемая патогенными микробами, или как вторичный оппортунистический процесс, поддерживаемый резидентной флорой после первичного действия повреждающих факторов экзогенной или эндогенной природы.

При поверхностных катаральных стоматитах обычно обнаруживают Gr+ аэробные кокки и палочки; при глубоких стоматитах, характеризующихся преобладанием альтерации и язвенно-некротических процессов, определяется строго анаэробная Gr– флора (фузобактерии, бактероиды, извитые формы), а также пептострептококки.

При протезировании в 98% случаев на зубных протезах обнаруживают дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Цель: научиться проводить лабораторную диагностику при стоматитах (инфекционных и оппортунистических), а также выделять культуру белой кандиды из патологического материала.

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

1. Рассмотреть этиопатогенез, особенности лабораторной диагностики, профилактики и лечения стоматитов. Дисбиозы и оппортунистические стоматиты.
2. Ознакомиться с морфологическими и культуральными свойствами дрожжеподобных грибов кандиды.
3. Рассмотреть этиопатогенез кандидозов, методы лабораторной диагностики и профилактики.

Практические навыки, подлежащие усвоению в ходе занятия:

1. На демонстрационных препаратах и посевах ознакомиться с лабораторной диагностикой при стоматитах, со свойствами возбудителей.
2. Провести микробиологическую диагностику кандидоза.

Исходные знания. Строение эукариотических и прокариотических клеток, вирусов.

Основные положения. Микробная флора и иммунные процессы при заболеваниях слизистой оболочки полости рта. Характеристика возбудителей импетиго, стоматитов, сифилиса, спирохетозов и других бактериальных инфекций, сопровождающихся проявлениями в полости рта. Заболевания грибковой этиологии с поражением слизистой оболочки полости рта. Характеристика возбудителей кандидоза и других системных микозов, сопровождающихся проявлениями в полости рта.

Основная литература:

1. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М. : Мед. информ. аг-во, 2008. — С. 685—690.
2. Микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царева. — М. : Практ. медицина, 2009. — С. 497—500, 504, 512, 515.
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, 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 и выделение грибов (см. занятие 19)	Результаты проверяются и подписываются преподавателем

Определение этиологически значимого ассоцианта по подсчету КОЕ/мл субстрата

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить препарат-мазок из исследуемого материала, окрасить по Граму, микроскопировать	Препарат микроскопирован (грамположительные, грамотрицательные бактерии)
2.	Приготовить раствор 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 посеvy в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч	Чашки Петри с посевами исследуемого материала в термостате

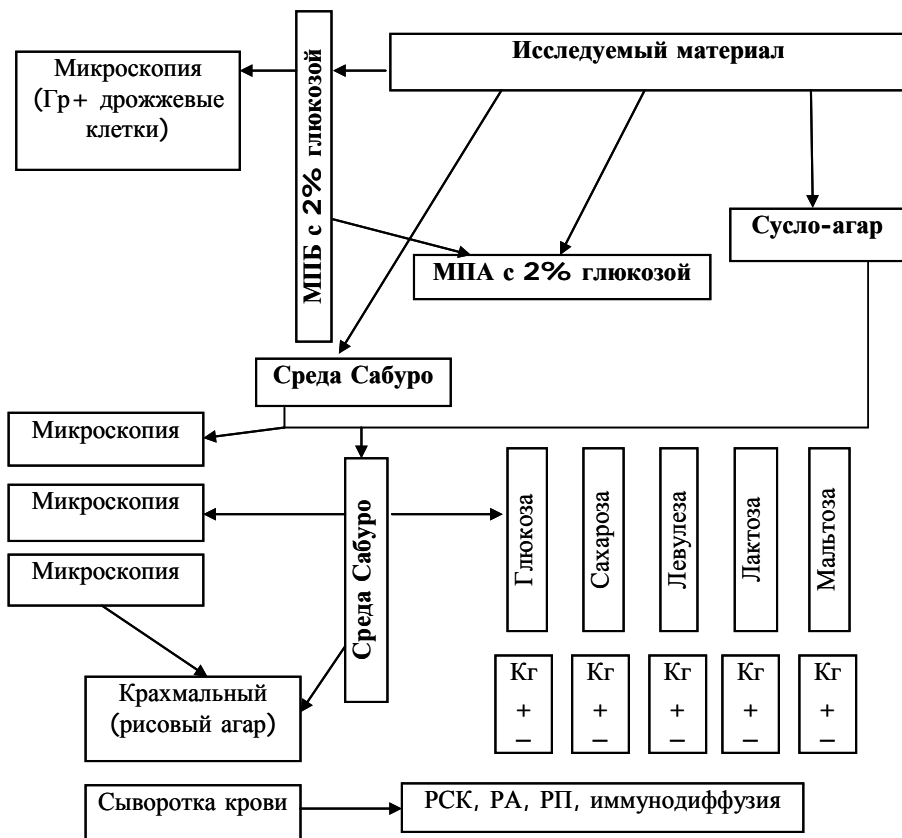
Операции		Состояние объекта
3.	Подсчитать колонии каждого типа на всех средах и пересчитать КОЕ/мл исследуемого материала. Окрасить по Граму, микроскопировать и произвести отсев колоний (количество которых 1000 и более на 1 мл) на скошенный МПА для выделения чистой культуры. Инкубировать посеvy при температуре 37°C в течение 24 ч	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 при температуре 37°C в течение 24 ч	Посевы на определение факторов вирулентности и чувствительности к антибиотикам в термостате
5.	Учесть результаты посевоv, 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

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

Операции		Состояние объекта
1.	Приготовить раствор, содержащий определенную концентрацию антибиотика в буферном растворе (в мкг/мл или ЕД/мл)	Основной раствор антибиотика
2.	Приготовить растворы антибиотика в бульоне в пробирках в объеме 1,0 мл (увеличивая последующие растворы 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 1,0 мл. В контрольную пробирку внести 1,0 мл бульона и 0,1 мл взвеси культуры (безантибиотика)	Пробирки с растворами антибиотика в бульоне и бактериальной взвесью
4.	Термостатировать посеvy при температуре 37°C в течение 8–12 ч	Посевы в термостате

5.	Оценить результаты по помутнению питательной среды, сравнивая с контролем культуры. <i>Последняя пробирка с раствором, где нет помутнения, т.е. роста культуры, и будет минимальной ингибирующей концентрацией антибиотика</i>	Результаты определения минимальной ингибирующей концентрации антибиотика. Оформить протокол и подписать у преподавателя
----	--	---

Схема микробиологической диагностики кандидоза



Вопросы для самоконтроля:

1. Какая патология обозначается термином «стоматит»?
2. Классификация стоматитов: инфекционные и оппортунистические; бактериальные, грибковые и вирусные.
3. Краткая характеристика вирусных (герпетических, коксаки) и бактериальных (стафилококковых и стрептококковых) стоматитов. Дисбактериозы ротовой полости.
4. Краткая характеристика болезни Венсана (фузоспирохетоз).
5. Краткая характеристика гонококкового стоматита.
6. Этиология и патогенез грибкового стоматита (кандидоз).
7. Изменение микрофлоры при протезировании и имплантации зубов.
8. Адгезия микробов к пломбирочным, реконструктивным и ортопедическим материалам. Проблема колонизационной резистентности.

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?
- 3) Какие меры необходимо принять для лечения?

III. 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 гиперемированы, 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 24. ИТОГОВАЯ ПРОВЕРКА ЗНАНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ЗАНЯТИЯХ 10-23

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

Вопросы:

1. Характеристика возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний и раневых инфекций. Методы микробиологической диагностики инфекционных болезней.
2. Стафилококки. Таксономия. Характеристика. Роль в развитии заболеваний полости рта. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
3. Стрептококки. Таксономия. Характеристика. Роль в развитии заболеваний полости рта. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
4. Возбудители эшерихиозов. Таксономия. Характеристика. Роль кишечной палочки в норме и 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 антитоксического 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 формировании 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. Особенности вирусных инфекций. Роль вирусов в патологии челюстно-лицевой области.
35. Иммунотерапия и иммунопрофилактика при инфекционных болезнях.

36. Особенности применения методов микробиологического исследования в стоматологии. Правила забора материала при инфекционных процессах, локализованных в полости рта.

37. Нормальная или резидентная микрофлора полости рта. Синергизм и антагонизм. Симбиоз микробных ассоциаций полости рта и макроорганизма.

38. Стабилизирующая и агрессивная микрофлора полости рта. Представители стабилизирующих видов: стрептококки «сангвис», «митис», «саливариус», вейллонеллы и нейссерии, коринебактерии, лактобактерии.

39. Основные биотопы полости рта (слизистой оболочки, спинки языка, десневой борозды, ротовой жидкости, зубного налёта) и особенности состава микрофлоры.

40. Зубной налёт и механизмы его образования. Роль биосинтеза гликанов. Адгезия и коагрегация бактерий.

41. Микрофлора при кариесе зубов. Кариесогенные виды микробов: микроаэрофильные стрептококки, актиномицеты и лактобациллы. Значение процессов гликолиза и фосфорилирования в деминерализации эмали.

42. Факторы, способствующие развитию кариеса. Кариограмма. Вейллонеллы и другие антагонисты кариесогенных бактерий.

43. Микрофлора при болезнях пародонта. Пародонтопатогенные виды микробов: превотеллы, порфиромонады, актинобациллы, трепонемы.

44. Роль актиномицетов в развитии гингивита и пародонтита.

45. Одонтогенная инфекция челюстно-лицевой области. Группы анаэробных стрептококков и бактероидов. Актиномикоз.

46. Воспалительные заболевания слизистой оболочки полости рта. Классификация стоматитов: инфекционные и оппортунистические; бактериальные, грибковые и вирусные.

47. Дисбактериозы ротовой полости. Фузоспирохетоз и кандидоз.

48. Проблема колонизационной резистентности.

49. Тактика антибактериальной профилактики и терапии при хирургических и ортопедических вмешательствах, дентальной имплантации.

50. Иммунотерапия и иммунопрофилактика при инфекционных процессах, локализованных в полости рта.

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 р. 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) Циля – Нельсена
 - 2) Ожешко
 - 3) Бури – Гинса
 - 4) Нейссера
- 7. Метод темнопольной микроскопии информативен при изучении**
 - 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*

13. 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 вирус-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. По механизму действия на клетку-мишень дифтерийный токсин 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. Возбудители брюшного тифа в первую неделю заболевания обнаруживаются**
- 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 следующую серологическую реакцию**
- 1) реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)
 - 2) реакция связывания комплемента (РСК)
 - 3) полимеразно-цепная реакция (ПЦР)
 - 4) вирусная гемагглютинация (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. При проведении 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) пикорновирусов
 - 3) ортомиксовирусов
 - 4) ретровирусов
- 35. ДНК-содержащим является возбудитель**
- 1) гепатита А
 - 2) гепатита В
 - 3) гепатита С
 - 4) гепатита Д
- 36. Основной путь передачи гепатита В детям первого года жизни**
- 1) грудное молоко
 - 2) воздушно-капельный
 - 3) парентеральный
 - 4) фекально-оральный
- 37. Лабораторный тест, наиболее достоверно подтверждающий диагноз ВИЧ-инфекции**
- 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

45. Этиотропный препарат для лечения гриппа

- 5) бисептол
- 6) ремантадинин
- 7) эритромицин
- 8) пенициллин

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).

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ПО МИКРОБИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА

1. В состав нормальной микрофлоры полости рта не входят

- 1) аутохтонные виды
- 2) аллохтонные виды
- 3) патогенные виды
- 4) условно-патогенные виды
- 5) непатогенные виды

- 2. Взаимовыгодный способ сосуществования микроорганизмов:**
- 1) комменсализм
 - 2) мутуализм
 - 3) эндосимбиоз
 - 4) эктосимбиоз
 - 5) антагонистический симбиоз
- 3. В состав нормальной микрофлоры ротовой полости не могут входить**
- 1) микробы-симбионты
 - 2) условно-патогенные микроорганизмы
 - 3) облигатные паразиты
 - 4) транзиторные микробы
 - 5) сапрофиты
- 4. Основной возбудитель кандидоза ротовой полости:**
- 1) *C. tropicalis*
 - 2) *C. parapsilosis*
 - 3) *C. glabrata*
 - 4) *C. albicans*
 - 5) *C. krusei*
 - 6) *C. kefyr*
- 5. Обязательным условием, обеспечивающим присутствие нормальной флоры на слизистых оболочках, является**
- 1) адгезия
 - 2) инвазия глубжележащих тканей
 - 3) токсинообразование
 - 4) способность к внутриклеточному паразитированию
- 6. Для адгезии на слизистых оболочках и тканях зуба бактериями не используются:**
- 1) пили (фимбрии)
 - 2) лиганд-рецепторные взаимодействия
 - 3) гидрофобные контакты
 - 4) коадгезия с другими представителями нормальной микрофлоры
 - 5) прикрепление к поверхностям жгутиками
- 7. К представителям стабилизирующих видов микрофлоры полости рта не относится**
- 1) стрептококк «сангвис»
 - 2) стрептококк «митис»
 - 3) стрептококк «саливариус»
 - 4) стрептококк «пиогенес»
- 8. Функции адгезинов бактерий не могут выполнять**
- 1) пили (фимбрии)
 - 2) липополисахариды клеточной стенки
 - 3) капсульные полисахариды

- 4) липотейхоевые кислоты
- 5) белки клеточной стенки

9. Местный специфический иммунитет слизистой полости рта обеспечивают иммуноглобулины классов

- 1) А секреторный
- 2) G
- 3) M
- 4) D
- 5) E

10. Основным механизмом образования зубного налёта не включает

- 1) биосинтез гликанов
- 2) адгезию бактерий
- 3) коагрегацию бактерий
- 4) агглютинацию бактерий

11. Микроорганизмы, не являющиеся облигатными представителями ротовой полости человека

- 1) стрептококки
- 2) спирохеты
- 3) бактериоиды
- 4) нейссерии
- 5) энтеробактерии

12. Бактерии — облигатные анаэробы ротовой полости

- 1) клостридии
- 2) энтерококки
- 3) бактериоиды
- 4) лактобактерии
- 5) нейссерии

13. Наиболее вероятной причиной кариеса является сочетание факторов

- 1) рацион с высоким содержанием жиров, нарушение гигиены полости рта, авитаминоз
- 2) рацион с высоким содержанием углеводов, предрасположенность организма, деятельность микроорганизмов
- 3) рацион с высоким содержанием белков, низкая концентрация фтора в питьевой воде, авитаминоз

14. Антагонисты кариесогенных бактерий:

- 1) Streptococcus spp.
- 2) Actinomyces spp.
- 3) Bacteriodes spp.
- 4) Veillonella spp.
- 5) Peptostreptococcus spp.

15. Молочнокислые бактерии ротовой полости:

- 1) лактобациллы

- 2) энтерококки
- 3) бактериоиды
- 4) нейссерии

16. Пародонтопатогенные виды микробов не включают:

- 1) Prevotella
- 2) Porphyromonas
- 3) Actinobacillus
- 4) Treponema
- 5) Veillonella

17. Одонтогенную инфекцию челюстно-лицевой области вызывают перечисленные микроорганизмы, кроме:

- 1) Streptococcus mutans
- 2) Streptococcus milleri
- 3) Veillonella
- 4) Bacteriodes spp.
- 5) Peptostreptococcus spp.
- 6) Actinomyces spp.

18. Факторы, обеспечивающие антагонизм лактобацилл по отношению к гнилостным бактериям:

- 1) бактериоцины
- 2) молочная кислота
- 3) бактериофаги
- 4) антибиотики
- 5) желчные кислоты

19. Роль нормальной микрофлоры полости рта в патологии человека

- 1) формирование колонизационной резистентности
- 2) субактивация (стимуляция) иммунокомпетентных клеток
- 3) источник эндогенных (оппортунистических) инфекций
- 4) участие в пищеварении
- 5) участие в развитии кариеса

20. Наиболее контаминированные отделы пищеварительного тракта

- 1) ротовая полость
- 2) пищевод
- 3) желудок
- 4) тонкий кишечник

21. При поверхностном стоматите выявляются

- 1) фузобактерии
- 2) стафилококки
- 3) трепонемы Венсана
- 4) бактериоиды
- 5) пептострептококки
- 6) вейлонеллы

7) актиномицеты

22. При глубоком стоматите выявляются

- 1) нейссерии
- 2) коринебактерии
- 3) трепонемы Венсана
- 4) стафилококки
- 5) гемофильные бактерии

23. Бактерии, вегетирующие в полости рта и образующие филаменты и мицелиальную форму

- 1) риккетсии
- 2) актиномицеты
- 3) хламидии
- 4) спирохеты

24. Бактерии, входящие в микробиоценозы полости рта и способные передвигаться за счет сокращения миофибрилл

- 1) микоплазмы
- 2) риккетсии
- 3) актиномицеты
- 4) хламидии
- 5) спирохеты

25. Факторы, без которых невозможна колонизация слизистых оболочек ротовой полости

- 1) антифагоцитарные факторы
- 2) адгезины
- 3) ингибиторы комплемента
- 4) IgA-протеазы
- 5) сидерофоры

26. Назовите виды спор, имеющиеся у кандид

- 1) артроспоры
- 2) хламидоспоры
- 3) зооспоры
- 4) таллоспоры

27. Наиболее значимая группа бактерий по типу дыхания в ротовой полости

- 1) факультативные анаэробы
- 2) аэробы
- 3) микроаэрофилы
- 4) облигатные анаэробы
- 5) факультативные аэробы

28. Острый псевдомембранозный кандидоз (молочница) чаще всего поражает

- 1) стариков, носящих зубные протезы
- 2) недоношенных детей

- 3) детей школьного возраста
 - 4) людей среднего возраста
 - 5) людей зрелого возраста
- 29. Хронический афтозный кандидоз чаще всего поражает**
- 1) стариков, носящих зубные протезы
 - 2) недоношенных детей
 - 3) детей школьного возраста
 - 4) людей среднего возраста
 - 5) людей зрелого возраста
- 30. В микробиологической диагностике кандидоза применяют все перечисленные методы, кроме:**
- 1) аллергический
 - 2) биологический
 - 3) микроскопический
 - 4) микологический
 - 5) серологический
- 31. Для лечения кандидоза используют все перечисленные препараты, кроме**
- 1) клотримазола
 - 2) нистатина
 - 3) пенициллина
 - 4) амфотерицина В
 - 5) красителей
- 32. Основным возбудителем актиномикоза является**
- 1) *A. bovis*
 - 2) *A. naeslundii*
 - 3) *A. israelii*
 - 4) *A. odontolyticus*
 - 5) *A. viscosus*
- 33. Возможным возбудителем актиномикоза является**
- 1) ассоциация с грамотрицательными бактериями *A. actinomycetem-comitans* и *H. aphrophilus*
 - 2) ассоциация с грамположительными бактериями *A. actinomycetem-comitans* и *H. aphrophilus*
- 34. Актиномицеты представляют собой**
- 1) грамотрицательные многоклеточные эукариоты
 - 2) грамположительные одноклеточные эукариоты
 - 3) грамотрицательные нитевидные прокариоты
 - 4) грамположительные ветвящиеся нити, прокариоты
 - 5) грамположительные палочки, прокариоты
- 35. Актиномицеты не размножаются**
- 1) спорами
 - 2) фрагментацией
 - 3) поперечным делением

- 4) почкованием
- 5) половым путем
- 36. В пораженных тканях актиномицеты образуют**
 - 1) капсулы
 - 2) друзы
 - 3) споры
 - 4) жгутики
 - 5) цисты
- 37. Видоспецифичность актиномицетов определяют антигены**
 - 1) Vi-антигены
 - 2) клеточной стенки
 - 3) жгутиковые
 - 4) соматические
 - 5) протективные
- 38. В лабораторной диагностике актиномикоза не используют метод**
 - 1) аллергический
 - 2) микроскопический
 - 3) бактериологический
 - 4) серологический
 - 5) биологический
- 39. Лечение актиномикоза не включает применение**
 - 1) пенициллина
 - 2) тетрациклина
 - 3) эритромицина
 - 4) клиндамицина
 - 5) амфотерицина
- 40. Профилактика актиномикоза не включает**
 - 1) специфическую профилактику
 - 2) повышение иммунного статуса
 - 3) применение актинолизата
- 41. Наиболее значимая группа в кокковой флоре ротовой полости**
 - 1) стрептококки
 - 2) стафилококки
 - 3) вейллонеллы
 - 4) нейссерии
 - 5) пептококки
- 42. В экологическую группу оральных стрептококков не входят**
 - 1) *S. salivarius*
 - 2) *S. mutans*
 - 3) *S. pyogenus*
 - 4) *S. sanguis*

5) *S. mitis*

43. Род бактерий, повышающих рН в ротовой полости в процессе метаболизма

- 1) нейссерии
- 2) вейллонеллы
- 3) стрептококки
- 4) стафилококки
- 5) лактобациллы

44. Факторы патогенности, не характерные для *Helicobacter pylori*

- 1) жгутики
- 2) адгезины
- 3) эндотоксины
- 4) экзотоксины

45. Основные свойства, не характерные для бактерий рода *Porphyromonas*

- 1) образуют пигментированные колонии
- 2) дают гемолиз на средах с кровью
- 3) лабильны к действию солей желчных кислот
- 4) чувствительны к действию ванкомицина
- 5) не чувствительны к действию ванкомицина

46. Свойства бактерий, не характерные для рода *Prevotella*

- 1) образуют пигментированные колонии
- 2) дают гемолиз на средах с кровью
- 3) лабильны к действию солей желчных кислот
- 4) чувствительны к действию ванкомицина

47. Основные свойства, не характерные для бактерий рода *Fusobacterium*

- 1) образуют пигментированные колонии
- 2) дают гемолиз на средах с кровью
- 3) образование масляной кислоты и индола как основных продуктов обмена
- 4) лабильны к действию солей желчных кислот
- 5) чувствительны к действию солей желчных кислот

48. Основные культуральные особенности микроорганизмов рода *Haemophilus*

- 1) требуют присутствие ростовых факторов в среде
- 2) требуют внесения сыворотки в среду
- 3) нуждаются во внесении в среду угля или прочих адсорбентов метоболитов
- 4) требуют создания анаэробных условий для культивирования

49. Род бактерий, понижающих окислительно-восстановительный потенциал в ротовой полости

- 1) лактобациллы
- 2) нейссерии

- 3) коринебактерии
- 4) стрептококки
- 5) бактериоиды

50. Биохимические особенности, не характерные для бактерий рода *Edwardsiella*:

- 1) ферментируют сахарозу
- 2) ферментируют глюкозу
- 3) образуют индол
- 4) образуют сероводород

51. Характерные культуральные особенности бактерий рода *Serratia*

- 1) растут при низких температурах
- 2) не способны к росту при температурах ниже 35°C
- 3) требовательны к составу питательных сред
- 4) отличаются сравнительно медленным ростом *in vitro*

52. Культуральные особенности, не характерные для бактерий рода *Morganella*

- 1) проявляют уреазную активность
- 2) образуют индол
- 3) проявляют фенилаланин дезаминазную активность
- 4) проявляют аргинин декарбоксилазную активность

53. Основные биологические признаки бактерий рода *Haemophilus*

- 1) грамположительные палочки
- 2) грамотрицательные палочки
- 3) не прихотливы к условиям культивирования
- 4) не требовательны к составу питательных сред

54. Основные биологические характеристики бактерий рода *Moraxella*

- 1) грамположительные палочки
- 2) грамотрицательные палочки
- 3) не требовательны к условиям культивирования
- 4) прихотливы к составу питательных сред

55. Рецидивирование герпетических инфекций обуславливают

- 1) способность к повторному размножению в очаге первичного инфицирования
- 2) рецидивы инфекции способна вызывать избыточная инсоляция
- 3) возбудитель длительно сохраняется в эпителиальных клетках
- 4) антитела не обеспечивают эффективную элиминацию возбудителя из организма

56. Биохимические особенности, не характерные для бактерий рода *Edwardsiella*

- 1) ферментируют лактозу
- 2) ферментируют глюкозу

- 3) образуют индол
- 4) образуют сероводород

57. Характерные культуральные особенности бактерий рода *Serratia*

- 1) не способны к росту при температурах ниже +35°C
- 2) требовательны к составу питательных сред
- 3) отличаются сравнительно медленным ростом *in vitro*
- 4) образуют пигменты

58. Культуральные особенности, не характерные для бактерий рода *Morganella*

- 1) проявляют уреазную активность
- 2) образуют индол
- 3) проявляют гемолитические свойства
- 4) проявляют фенилаланин дезаминазную активность

59. Оптимальными для обеззараживания термолабильных материалов являются

- 1) стерилизация окисью этилена
- 2) обработка 3%-ным раствором H₂O₂
- 3) обработка этанолом
- 4) УФ-облучение

61. Рост анаэробных микроорганизмов подавляет

- 1) метронидазол
- 2) полимиксин
- 3) ванкомицин
- 4) триметапрын
- 5) эметин

62. Биоценозы, играющие основную роль в поддержании постоянства биотопа

- 1) вирусные
- 2) бактериальные
- 3) грибковые
- 4) простейшие
- 5) актиномицеты

63. Микроорганизмы микробного пейзажа полости рта здоровых людей, встречающиеся в 100% случаев

- 1) лактобактерии
- 2) стафилококки
- 3) коринебактерии
- 4) стрептококки
- 5) бактероиды

64. В полости рта здоровых людей в 90% случаев встречаются

- 1) стафилококки
- 2) фузобактерии
- 3) нейсерии

- 4) лептотрихи
 - 5) лактобактерии
- 65. В полости рта здоровых людей в 40% случаев встречаются**
- 1) спирохеты
 - 2) актиномицеты
 - 3) стафилококки
 - 4) микрококки
 - 5) микоплазмы
- 66. В полости рта здоровых людей в 25% случаев встречаются**
- 1) стафилококки
 - 2) кандиды
 - 3) фузобактерии
 - 4) микрококки
 - 5) лептотрихи
- 67. Постоянными микроорганизмами ротовой полости считаются виды, встречаемость которых**
- 1) 25%
 - 2) 30%
 - 3) 40%
 - 4) 25–50%
 - 5) 50% и более
- 68. В нормоценозе первого порядка доминируют**
- 1) Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis, лактобактерии
 - 2) Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguis, лактобактерии
 - 3) Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, лактобактерии
 - 4) Streptococcus sanguis, Streptococcus lactis, лактобактерии
 - 5) Streptococcus pyogenes, Streptococcus sanguis, лактобактерии
- 69. В структуре микрофлоры полости рта здоровых людей спирохеты и бактероиды появляются**
- 1) в 1 год
 - 2) в 5 лет
 - 3) в 15 лет
 - 4) в 40 лет
 - 5) в 60 лет
- 70. Использование съемных протезов влияет на микрофлору полости рта, что приводит к увеличению процентного содержания**
- 1) стафилококков
 - 2) спирохет
 - 3) грибов кандиды
 - 4) фузобактерии
 - 5) стрептококков
- 71. При формировании зубных бляшек особая роль принадлежит**
- 1) Streptococcus mitis

- 2) Streptococcus sanguis
- 3) Staphylococcus epidermidis
- 4) Staphylococcus aureus
- 5) Treponema denticola

72. Пусковым механизмом в патогенезе кариеса является адгезия к эмали зуба

- 1) Streptococcus salivarius
- 2) Streptococcus sanguis
- 3) Streptococcus mitis
- 4) Streptococcus lactis
- 5) Streptococcus mutans

73. К ведущим кариесогенным микробам относятся:

- 1) Lactobacillus acidophilus, Actinomyces viscosus
- 2) Staphylococcus albus, Streptococcus lactis
- 3) Treponema denticola, Borrelia buccalis
- 4) Corynebacterium, Veillonella

74. К невоспалительным одонтогенным инфекциям относятся

- 1) пульпит
- 2) периодонтит
- 3) кариес
- 4) периостит
- 5) синусит

75. Анаэробные неспорообразующие бактерии ротовой полости, входящие в постоянную микрофлору

- 1) лактобациллы
- 2) бактериоды
- 3) коринебактерии
- 4) нейссерии
- 5) стрептококки

76. «Стабилизирующая» микрофлора полости рта не включает

- 1) S. salivarius
- 2) S. sanguis
- 3) S. mitis
- 4) S. mutans
- 5) коринебактерии
- 6) вейллонеллы

77. Наиболее обсемененные биотопы ротовой полости в норме

- 1) гингивальные (десневые) борозды
- 2) слизистая щек
- 3) корень языка
- 4) твердое небо

- 78. Изменение температуры в ротовой полости**
- 1) оказывает влияние на микрофлору
 - 2) не приводит к изменению в микробиоценозе
 - 3) воздействует на pH среды
 - 4) приводит к снижению ОВП
 - 5) происходит в течение короткого промежутка времени
- 79. Факторы, не влияющие на образование зубного налета**
- 1) вязкость слюны
 - 2) адгезия и коагрегация бактерий
 - 3) наличие местных воспалительных заболеваний
 - 4) антибиотикотерапия
 - 5) характер питания
- 80. Стрептококки группы В (*Streptococcus agalactiae*) вызывают**
- 1) скарлатину
 - 2) ревматизм
 - 3) кариес
 - 4) пародонтоз
 - 5) эрозивный стоматит
- 81. Смешанная стафило-, стрептококковая инфекция является причиной развития**
- 1) сикоза
 - 2) импетиго
 - 3) эксфолиативного дерматита
 - 4) эрозивного стоматита
 - 5) рожистого воспаления
- 82. Ведущая роль в образовании зубного налета принадлежит следующей группе микроорганизмов**
- 1) стрептококки
 - 2) вейллонеллы
 - 3) нейссерии
 - 4) фузобактерии
 - 5) лептотрихии
- 83. Микроорганизмы, доминирующие в процессе образования зубной бляшки**
- 1) *Bacteroides* spp.
 - 2) *Veillonella* spp.
 - 3) *S. mutans*
 - 4) *S. sanguis*
 - 5) *S. salivarius*
- 84. Бактерии – представители нормальной флоры полости рта, участвующие в начальных этапах развития кариеса**
- 1) кандиды
 - 2) стафилококки

- 3) бактероиды
- 4) стрептококки
- 5) нейссерии

85. Выраженными кариесогенными свойствами обладают:

- 1) *S. sanguis*
- 2) *S. mutans*
- 3) *Bacteroides* spp.
- 4) *Veillonella* spp.
- 5) *Actinomyces viscosus*

Ответы:

1 – 3), 2 – 2), 3 – 3), 4 – 4), 5 – 1), 6 – 5), 7 – 4), 8 – 2), 9 – 1), 10 – 4), 11 – 5), 12 – 3), 13 – 2), 14 – 4), 15 – 1), 16 – 5), 17 – 3), 18 – 2), 19 – 5), 20 – 1), 21 – 2), 22 – 3), 23 – 1), 24 – 5), 25 – 2), 26 – 2), 27 – 4), 28 – 2), 29 – 1), 30 – 2), 31 – 3), 32 – 3), 33 – 1), 34 – 4), 35 – 5), 36 – 2), 37 – 2), 38 – 5), 39 – 5), 40 – 1), 41 – 1), 42 – 3), 43 – 2), 44 – 4), 45 – 5), 46 – 4), 47 – 5), 48 – 1), 49 – 3), 50 – 1), 51 – 1), 52 – 4), 53 – 2), 54 – 2), 55 – 2), 56 – 1), 57 – 4), 58 – 3), 59 – 1), 60 – 4), 61 – 1), 62 – 2), 63 – 4), 64 – 5), 65 – 3), 66 – 2), 67 – 5), 68 – 2), 69 – 3), 70 – 3), 71 – 2), 72 – 5), 73 – 1), 74 – 3), 75 – 2), 76 – 4), 77 – 1), 78 – 5), 79 – 4), 80 – 5), 81 – 2), 82 – 1), 83 – 3), 84 – 4), 85 – 2).

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
<i>Занятие 1.</i> Микроскопический метод исследования морфологии и структуры бактерий	5
<i>Занятие 2.</i> Бактериологический метод исследования. Выделение чистых культур аэробных и анаэробных бактерий	11
<i>Занятие 3.</i> Стерилизация и дезинфекция. Предстерилизационная обработка и стерилизация стоматологических инструментов	16
<i>Занятие 4.</i> Изучение вирулентности и чувствительности к антибиотикам выделенных культур	20
<i>Занятие 5.</i> Вирусоскопический и вирусологический методы исследования. Индикация и идентификация вирусов	26
<i>Занятие 6.</i> Строение бактериального генома. Наследственность и изменчивость у бактерий	30
<i>Занятие 7.</i> Механизмы неспецифической резистентности. Фагоцитоз, лизоцим, комплемент. Антигены и антитела. Иммунные реакции	34
<i>Занятие 8.</i> Серологический метод диагностики. Иммунопрофилактика и иммунотерапия	38
<i>Занятие 9.</i> Итоговая проверка знаний, полученных на занятиях 1–8	42
<i>Тестовые задания</i>	43
<i>Занятие 10.</i> Микробиологическая диагностика кокковых инфекций (стафилококков)	50
<i>Занятие 11.</i> Микробиологическая диагностика кокковых инфекций (стрептококки, пневмококки, энтерококки, менингококки, гонококки)	55
<i>Занятие 12.</i> Микробиологическая диагностика кишечных инфекций (эшерихиозы, шигеллезы)	59
<i>Занятие 13.</i> Микробиологическая диагностика острых кишечных инфекций (брюшной тиф и паратифы, холера)	62
<i>Занятие 14.</i> Микробиологическая диагностика дифтерии и коклюша	65
<i>Занятие 15.</i> Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных микобактериями (туберкулез, микобактериозы, актиномикоз)	68
<i>Занятие 16.</i> Микробиологическая диагностика спирохетозов и риккетсиозов	72

<i>Занятие 17. Лабораторная диагностика вирусных инфекций (грипп и другие ОРВИ, корь, паротит, краснуха, энтеровирусы, вирусы гепатитов А и Е)</i>	76
<i>Занятие 18. Лабораторная диагностика вирусных инфекций (парентеральные гепатиты В, С, D, ВИЧ-инфекция, бешенство, герпетическая инфекция)</i>	79
<i>Занятие 19. Особенности применения методов микробиологического исследования в стоматологии</i>	81
<i>Занятие 20. Микробиоценоз полости рта. Зубной налет и его изучение. Карисогенная микрофлора</i>	84
<i>Занятие 21. Изучение микрофлоры гнойного отделяемого при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области</i>	87
<i>Занятие 22. Пародонтопатогенная микрофлора. Методы ее изучения при болезнях пародонта</i>	89
<i>Занятие 23. Микробиологическая диагностика стоматитов (инфекционных и оппортунистических). Микрофлора при протезировании зубов</i>	92
<i>Занятие 24. Итоговая проверка знаний, полученных на занятиях 10–23</i>	97
<i>Тестовые задания по частной медицинской микробиологии</i>	100
<i>Тестовые задания по микробиологии полости рта</i>	106