

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
КЫРГЫЗСКО-РОССИЙСКИЙ СЛАВЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра микробиологии и вирусологии

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

**Учебно-методическое пособие
к лабораторным занятиям
для студентов специальностей
«Лечебное дело» и «Педиатрическое дело»**

Бишкек 2016

УДК 579

М 42

Рецензенты:

Е.А. Радченко, канд. мед. наук, доцент,
А.М. Умуралиева, канд. мед. наук, доцент

Составители:

профессор *Д.А. Адамбеков*,
доценты: *Ф.С. Мустафина*, *Г.Р. Бестужева*, *М.А. Сабодаха*,
А.Д. Адамбекова, *Г.К. Садыбакасова*

Отв. редактор:

Д.А. Адамбеков, чл.-корр. НАН КР, д-р мед. наук, профессор

М 42 МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ:
учебно-методическое пособие к лабораторным занятиям для
студентов специальностей «Лечебное дело» и «Педиатри-
ческое дело» / сост. Д.А. Адамбеков, Ф.С. Мустафина, Г.Р.
Бестужева и др.; отв. ред. Д.А. Адамбеков. Бишкек: Изд-во
КРСУ, 2016. 325 с.

© ГОУВПО КРСУ, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	5
Учебно-исследовательская работа 1	5
Учебно-исследовательская работа 2	12
Учебно-исследовательская работа 3	13
Учебно-исследовательская работа 4	16
Учебно-исследовательская работа 5	19
Учебно-исследовательская работа 6	41
Учебно-исследовательская работа 7	53
Учебно-исследовательская работа 8	61
Учебно-исследовательская работа 9	70
Учебно-исследовательская работа 10	80
Учебно-теоретическая работа 11	84
Учебно-исследовательская работа 12	109
ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	194
Учебно-исследовательская работа 13	194
Учебно-исследовательская работа 14	196
Учебно-исследовательская работа 15	198
Учебно-исследовательская работа 16	200
Учебно-теоретическая работа 17	202
Учебно-исследовательская работа 18	224
Учебно-исследовательская работа 19	225
Учебно-исследовательская работа 20	227
Учебно-исследовательская работа 21	229
Учебно-исследовательская работа 22	250
Учебно-исследовательская работа 23	252
Учебно-исследовательская работа 24	253
Учебно-исследовательская работа 25	255
Учебно-исследовательская работа 26	257
Учебно-теоретическая работа 27	259
Учебно-исследовательские работы 28–29	279
Учебно-исследовательская работа 30	282
Учебно-исследовательская работа 31	283
Учебно-исследовательская работа 32	286

Учебно-исследовательская работа 33	288
Учебно-исследовательская работа 34	290
Учебно-теоретическая работа 35.....	290
Учебно-исследовательская работа 36	314
ЭКЗАМЕНАЦИОННЫЕ ВОПРОСЫ	316
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА...	327
ЛИТЕРАТУРА	329

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Раздел: МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учебно-исследовательская работа 1

Тема: МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

План

1. Знакомство с правилами работы и основами техники безопасности в микробиологической лаборатории.
2. Методы микробиологических исследований.
3. Световой микроскоп и техника микроскопии с иммерсионной системой.
4. Фазово-контрастный микроскоп.
5. Люминесцентный микроскоп.
6. Электронный микроскоп.

Теоретический блок

Перед тем, как приступить к изучению нового для студентов предмета – микробиологии, необходимо ознакомиться с правилами работы в микробиологической лаборатории для предохранения от заражения и распространения микробов.

Общие правила безопасной работы в микробиологической лаборатории во время занятий

1. Студенты до входа в учебное помещение должны надеть халат.
2. Каждый студент должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.
3. Рабочее место следует содержать в чистоте, не загромождать его посудой и посторонними предметами, по окончании работы убрать все приборы в шкаф.
4. Приборы общего пользования (весы, микроскопы, приборы для определения температуры плавления, кипения и фильтрования

при пониженном давлении, установки для перегонки) устанавливаются отдельно.

5. Рабочие места студентов запрещается загромождать склянками с реактивами, не нужными в данный момент приборами, посудой и посторонними предметами.

6. Во время работы в лаборатории следует соблюдать тишину, порядок и чистоту, не допускать торопливости, беспорядочности и неряшливости.

7. Запрещается посещение студентов, а также отвлечение студентов, работающих в лаборатории, посторонними лицами, посторонними делами или разговорами.

8. Студентам запрещается работать в лаборатории в отсутствие преподавателя или лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения преподавателя.

9. Категорически запрещается выполнять в лаборатории экспериментальные работы, не связанные с учебным практикумом.

10. К выполнению каждой работы студенты могут приступать только после получения инструктажа по технике безопасности и с разрешения преподавателя.

11. Приступая к работе, необходимо:

- уяснить методику работы;
- проверить правильность сборки прибора или установки;
- проверить в описании работы соответствие взятых веществ указанным.

12. По окончании работы необходимо:

- выключить воду, газ и электричество;
- убрать в шкаф реактивы, чистую стеклянную посуду и приборы;
- поставить металлические штативы в установленном месте на столе;
- унести грязную посуду в моечную;
- вытереть поверхность стола тряпкой.

13. Полученные при опыте вещества следует хранить в соответствующей посуде с этикетками или с ясными надписями восковым карандашом.

14. Приборы и установки общего пользования (весы, микроскопы, приборы для определения температуры плавления, кипения и фильтрования при пониженном давлении, установки для перегонки) после занятий нужно убрать с рабочих мест в отведенные места хранения (шкафы, ящики и др.).

15. На полках над столами размещают склянки с часто применяемыми реактивами.

16. Пролитую на пол или стол ядовитую жидкость студенты обезвреживают и удаляют под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с установленными правилами.

17. Работы с опасными веществами студенты должны выполнять с использованием соответствующих защитных средств.

18. На занятиях со студентами по возможности используются вместо опасных веществ имитирующие, опыты с опасными веществами выполняются лаборантом под руководством преподавателя.

19. В начале каждого занятия преподаватель проводит краткий инструктаж о мерах безопасности при работе с изучаемым веществом, препаратом, прибором. Инструктаж фиксируется в журнале.

20. Перед зажиганием спиртовки нужно удостовериться, что корпус ее исправен, фитиль выпущен на нужную высоту и распушен, а горловина и держатель фитиля сухие.

21. Зажженную спиртовку нельзя переносить с места на место. Нельзя зажигать одну спиртовку от другой.

22. Гасить спиртовку можно лишь одним способом – накрыв пламя фитиля колпачком.

23. В спиртовках используется только этиловый спирт (в крайнем случае, керосин). Нельзя пользоваться бензином или другими горючими жидкостями.

24. В нерабочем состоянии спиртовки хранятся в металлических ящиках или в вытяжном шкафу.

25. В случае взрыва спиртовки первая помощь пострадавшему оказывается в зависимости от характера травмы.

Микроскопы

Для обнаружения и исследования микроорганизмов применяют микроскопы. **Световые микроскопы** предназначены для изучения микроорганизмов, которые имеют размеры не менее 0,2 мкм (бактерии, простейшие и т. п.), а электронные – для изучения более мелких микроорганизмов (вирусов) и мельчайших структур бактерий.

Современные световые микроскопы – это сложные оптические приборы, обращение с которыми требует определенных знаний, навыков и большой аккуратности.

В микроскопе различают механическую и оптическую части. К механической части относятся: штатив (состоящий из основания и тубусодержателя) и укрепленные на нем тубус с револьвером для объективов, предметный столик для препарата, приспособления для крепления конденсора и диафрагмы, а также встроенные в штатив макровинт и микровинт.

Оптическая часть микроскопа представлена объективами, окулярами и осветительной системой, которая, в свою очередь, состоит из расположенных под предметным столиком конденсора Аббе, зеркала, имеющего плоскую и вогнутую стороны, а также отдельного или встроенного осветителя. Объективы ввинчиваются в револьвер, а соответствующий окуляр, через который наблюдают изображение, устанавливают с противоположной стороны тубуса. Тубусы бывают монокулярными (имеющими один окуляр) и бинокулярными (имеющими два одинаковых окуляра).

Для измерения размеров микроорганизмов используются окуляр-микрометры с вмонтированной в них масштабной сеткой с делениями.

Увеличение микроскопа ориентировочно можно определить, умножив увеличение объектива на увеличение окуляра. Помимо увеличения требуется четкость изображения, которая определяется разрешающей способностью микроскопа, т. е. возможностью различать раздельно две близко расположенные точки. Для светового микроскопа это 0,2 мкм. Разрешающая способность микроскопа зависит от длины световой волны, освещающей объект, и числовой апертуры объектива.

Объективы дают основное увеличение объекта, они бывают «сухие» и иммерсионные (*лат.* *immersio* – погружение). «Сухим» называется объектив, между фронтальной линзой которого и препаратом находится воздух; иммерсионным – когда пространство между исследуемым препаратом и фронтальной линзой объектива вносится иммерсионная жидкость с показателем преломления таким же, как у стекла. В качестве иммерсионной жидкости используют специальное синтетическое иммерсионное масло или кедровое.

Практическое задание и методика работы

Техника микроскопии окрашенных препаратов с иммерсионной системой:

1. Подготовить биологический микроскоп для работы с иммерсионной системой. Поднять конденсор вверх до отказа, диафрагма конденсора полностью открыта.

2. Установить хорошее освещение поля зрения с помощью плоского зеркала и объектива $\times 8$.

3. Перевести объектив $\times 8$ на объектив иммерсионный $\times 90$.

4. На мазок нанести каплю иммерсионного масла и погрузить объектив в масло под контролем глаза.

5. Глядя в окуляр, с помощью макровинта найти изображение мазка.

6. С помощью макровинта добиться четкого изображения мазка. Обратит внимание на форму, размеры, расположение, окраску микробов.

7. После окончания работы перевести микроскоп в нерабочее положение: для этого поднять колонку штатива микроскопа макровинтом, снять препарат и удалить иммерсионное масло с объектива и с препарата фильтровальной бумагой осторожными промокательными движениями, установить объективы вне отверстия предметного столика и опустить колонку штатива.

8. Провести иммерсионную микроскопию готового микропрепарата (мазка) из чистой культуры стафилококка.

Фазово-контрастная микроскопия используется для изучения живых неокрашенных микроорганизмов, обладает хорошей

разрешающей способностью, дает возможность различать некоторые структуры микроорганизмов. Метод фазово-контрастной микроскопии основан на превращении оптическими средствами фазовых колебаний света в амплитудные. Это дает возможность получать контрастное изображение живых неокрашенных объектов, которые по своей природе являются фазовыми, т. е. вызывают сдвиг по фазе проходящей через них световой волны, не меняя ее амплитуды. Человеческий глаз не улавливает фазовые колебания, но воспринимает амплитудные колебания световой волны, которые возникают при прохождении их через окрашенные препараты. Поэтому неокрашенные объекты при обычном методе микроскопии практически не видимы. Для повышения контрастности живых неокрашенных объектов их превращают в амплитудные с помощью специального фазово-контрастного устройства, состоящего из фазовой пластинки, нанесенной на линзу специального фазового объектива, и набора кольцевых диафрагм, смонтированных в конденсор. Эти приспособления позволяют резко повысить контрастность живых неокрашенных микроорганизмов, и они выглядят темными на светлом фоне (позитивный фазовый контраст) или светлыми на темном фоне (негативный фазовый контраст).

Действие **люминесцентных микроскопов** основано на использовании люминесценции биологических объектов, возникающей при их облучении светом определенной длины волны. Люминесцентные микроскопы представляют собой обычные биологические микроскопы, снабженные ярким источником света (как правило, ртутно-кварцевые лампы, излучающие ультрафиолетовые лучи, возбуждающие люминесценцию) и набором светофильтров, предназначенных для выделения из общего светового потока строго определенных участков спектра. Флюорохромы, связываясь с НК или белками, образуют стойкие комплексы, которые светятся в люминесцентном микроскопе желто-зеленым, оранжево-красным, коричнево-красным цветами.

Оптическая схема люминесцентного микроскопа отличается от обычной схемы выбором источника света и наличием на пути лучей двух светофильтров: один светофильтр перед конденсором,

пропускающий короткие лучи, возбуждающие люминесценцию; второй светофильтр – в окуляре микроскопа, убирающий короткие, вредные для глаз лучи.

В **электронном микроскопе** вместо светового потока используется поток электронов в глубоком вакууме. В качестве «линз», фокусирующих электроны, служит электромагнитное поле, создаваемое электромагнитными катушками. Изображение в электронном микроскопе наблюдают на флюоресцирующем экране и фотографируют. Электронное изображение формируется электрическими и магнитными полями примерно так же, как световое – оптическими линзами. Разрешающая способность электронных микроскопов значительно выше, чем световых и достигает 0,15 нм, что позволяет получить увеличение в миллионы раз.

Контрольные вопросы

1. Какие задачи выполняет медицинская микробиология?
2. Организация микробиологической лаборатории, правила работы и основы техники безопасности?
3. Методы микробиологических исследований.
4. Устройство биологического микроскопа и правила работы с ним.
5. Иммерсионная система, её преимущество, правила работы с иммерсионным объективом.
6. Как определить увеличение микроскопа? Что такое разрешающая способность микроскопа и от каких факторов она зависит?
7. Какие размеры имеют микробы и способы их определения?
8. Принцип работы фазово-контрастного микроскопа.
9. Принцип работы люминесцентного микроскопа.
10. Принцип работы электронного микроскопа. Основные отличия электронного микроскопа от светового.

Учебно-исследовательская работа 2

Тема: ФОРМЫ БАКТЕРИЙ. МЕТОДЫ ИХ ИЗУЧЕНИЯ

План

1. Основные формы бактерий.
2. Техника приготовления препарата-мазка из чистой культуры бактерий и исследуемого материала. Окраска простым методом. Анилиновые красители.
3. Микроскопия мазков из чистых культур кокковидных, палочковидных и извитых форм бактерий.
4. Приготовление мазка из зубного налета по Бурри.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить основные формы бактерий по таблице. Нарисовать и написать латинские названия.
2. Приготовить мазок из чистой культуры бактерий:
 - а) прокаленной и остуженной петлей или пипеткой взять каплю физиологического раствора и нанести на предметное стекло;
 - б) в каплю физраствора внести стерильной и остуженной петлей небольшое количество чистой культуры микробов и приготовить мазок диаметром 1–1,5 см.
3. Высушить мазок на воздухе.
4. Зафиксировать мазок в пламени спиртовки, проводя 3–4 раза мазком вверх через пламя.
5. Окрасить мазок:
 - а) нанести на мазок водный раствор красителя (фуксина на 1–2 мин или метиленового синего на 2–3 мин);
 - б) слить краску и промыть мазок водой;
 - в) высушить фильтровальной бумагой;
 - г) микроскопировать мазки с иммерсионной системой, определить вид микроба и зарисовать.
6. Провести иммерсионную микроскопию готовых микропрепаратов из чистой культуры стафилококков, стрептококков, эшерихий, сибиреязвенных палочек и зарисовать их.

7. Приготовить мазок **по Бурри**. На предметное стекло нанести каплю туши. Прокаленной и остуженной петлей взять зубной налет у шейки зуба и тщательно размешать в капле туши. Шлифованным предметным стеклом под углом 45° провести по предметному стеклу. Мазок высушить. Микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат: на черном фоне видны неокрашенные микробные клетки. Мазок зарисовать.

Контрольные вопросы

1. Нарисовать основные формы микробов и написать латинские названия.
2. Из каких этапов состоит процесс приготовления мазка?
3. Для чего осуществляют фиксацию мазка из культуры бактерий и как она проводится?
4. Что такое тинкториальные свойства бактерий? Для чего их изучают?
5. Назовите основные краски, применяемые для окраски микроорганизмов.
6. Что значит простой способ окраски микробов?
7. Как приготовить мазок по Бурри?

Учебно-исследовательская работа 3

Тема: СЛОЖНЫЕ (ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ) СПОСОБЫ ОКРАСКИ. СПОРООБРАЗОВАНИЕ У БАКТЕРИЙ

План

1. Окраска мазков по Граму.
2. Окраска кислотоустойчивых бактерий.
3. Выявление спор у микробов простым способом и методом Ожешки.
4. Сложные методы окраски микробов.

Практическое задание и методика работы

Сложные методы окраски являются многоэтапными, мазок последовательно обрабатывают различными красками, протравами, дифференцирующими веществами и подразделяют на:

- дифференцирующие, позволяющие отличить одни виды бактерий от других (методы Грама, Циля – Нильсена);
- предназначенные для выявления различных структур бактериальной клетки (методы Ожешко, Нейссера и др.).

1. Окраска мазков по Граму в модификации Синева:

а) мазки накрыть фильтровальной бумагой, пропитанной раствором карболового генцианвиолета и налить воду на 2 мин;

б) снять пинцетом бумагу и слить краску. Не промывая водой, нанести раствор Люголя на 1 мин (мазок чернеет);

в) слить раствор Люголя и, не промывая водой, погрузить в спирт на 30 сек;

г) промыть водой и докрасить водным раствором фуксина 2 мин;

д) промыть мазки водой, высушить фильтровальной бумагой. Микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат: Грам+ – микроорганизмы окрашиваются в фиолетовый цвет, Грам- – в красный.

2. Окраска кислотоустойчивых микробов по Цилю – Нильсену:

а) готовый мазок из мокроты покрыть фильтровальной бумагой, налить раствор карболового фуксина. Подогреть над пламенем спиртовки до появления паров 2–3 раза, не доводя до кипения;

б) дать препарату остыть, снять бумагу, слить избыток краски, промыть препарат водой;

в) обесцветить препарат 5%-ной серной кислотой в течение 2–3 сек. После обесцвечивания слить остаток кислоты и тщательно промыть мазок водой;

г) докрасить мазок метиленовым синим (водным раствором) в течение 3-х мин;

д) препарат промыть водой, высушить фильтровальной бумагой и микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат: Кислотоустойчивые туберкулезные палочки окрашиваются в рубиново-красный цвет, некислоустойчивые микроорганизмы – в синий.

3. Выявление спор

Простой способ. На готовый мазок налить водный метиленовый синий на 3–5 мин или водный фуксин на 1–2 мин. Краску слить, промыть водой, высушить, микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат. Споры не окрашиваются, вегетативная часть клетки микроба окрашивается метиленовым синим в синий цвет, или фуксином – в красный.

Сложный способ по Ожешко основан на кислотоустойчивости спор. Готовят густой мазок из культур спорообразующих микроорганизмов, высушивают на воздухе (но не фиксируют), наливают на мазок 0,5%-ную соляную кислоту и подогревают в течение 2 мин для протравливания (оболочка спор размягчается, что способствует ее прокрашиванию). Мазок промывают, высушивают и фиксируют в пламени спиртовки. Далее мазок окрашивают по Цилю – Нильсену.

Результат. Споры окрашиваются в красный цвет, вегетативная часть клетки – в синий.

Контрольные вопросы

1. Какие методы окраски называют сложными, дифференциальными, позволяющими разделить все бактерии на две группы?
2. Техника окраски по Граму (модификация Синева).
3. Чем объясняется различное отношение микробов к окраске по Граму?
4. Каково строение клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий?
5. Назовите грамположительные и грамотрицательные микробы.
6. Какие микробы относятся к кислотоустойчивым? Чем обусловлена кислотоустойчивость?

7. Методика и результат окраски по Цилю – Нильсену? Опишите микроскопическую картину мазка из мокроты больного туберкулезом, окрашенного по Цилю – Нильсену.

8. Что такое спора микроба, её значение у прокариотов, структура, стадии спорогенеза?

9. Чем объяснить устойчивость спор к различным факторам внешней среды?

10. Какие микробы образуют споры? В чем отличие бацилл от клостридий?

11. Чем обусловлена кислотоустойчивость спор?

12. Методы выявления спор (простой и сложный).

Учебно-исследовательская работа 4

Тема: СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ. МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУР БАКТЕРИЙ

План

1. Особенности строения бактериальной прокариотической клетки и её отличие от клеток высших организмов (эукариот).

2. Основные структуры бактериальной клетки: клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, нуклеоид. Дополнительные структуры – жгутики, пили, капсулы, споры, включения.

3. Микробы, образующие капсулу только в организме и постоянно. Структура значение капсулы и методы выявления.

4. Волутиновые зерна, их химический состав, значение и методы окраски.

5. Жгутики, структура, расположение, значение. Выявление подвижности микробов.

6. Ультрамикроскоп, принцип работы.

7. Морфология спирохет, актиномицет, микоплазм, риккетсий и хламидий.

Практическое задание и методика работы

1. Капсулу микроорганизмов выявляют:

• *простым способом* окраски в мазках из клинического материала (мокрота и гной). Для этого мазки окрашивают водными растворами фуксина или метиленовой синей. При микроскопии видны окрашенные тела бактерий, окруженные бесцветной капсулой;

• *сложным способом по Бурри – Гинсу*: для этого мазок, приготовленный по Бурри фиксируют и окрашивают разведенным карболовым фуксином Циля. Фуксин окрашивает тела бактерий в красный цвет, капсулы остаются не окрашенными и хорошо видны вокруг бактерий на черном фоне туши.

2. Цитоплазматические включения волютина выявляют окраской по Леффлеру (*простой способ*) или по Нейссеру (*сложный способ*).

Окраска по Леффлеру:

а) на готовый мазок нанести щелочной раствор метиленового синего на 2 мин;

б) промыть водой, высушить и микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат: тело микроба окрашено в светло-синий цвет, волютиновые зерна – в темно-синий.

Окраска по Нейссеру:

а) на готовый мазок нанести уксусно-кислый метиленовый синий на 2 мин;

б) промыть мазок водой;

в) нанести на мазок раствор Люголя на 30–40 сек;

г) не промывая мазок водой, слить раствор Люголя и нанести везувин на 10–15 сек;

д) промыть водой, высушить, микроскопировать с иммерсионной системой.

Результат: тело микроба окрашено в желтый цвет, волютиновые зерна – в темно-синий, почти черный цвет.

3. Подвижность микробов изучают в препаратах «раздавленная капля» и «висячая капля»:

а) препарат **«раздавленная капля»**: чистое стекло слегка подогреть над пламенем спиртовки. Нанести на стекло каплю физиологического раствора. Суточную культуру сенной палочки петлей внести в каплю физиологического раствора на стекле, осторожно размешать и накрыть покровным стеклом;

б) препарат **«висячая капля»**: каплю культуры наносят на покровное стекло и накрывают специальным предметным стеклом с лункой, переворачивают. Приготовленные препараты рассматривают в затемненном поле зрения, т. е. при уменьшенной интенсивности освещения, что достигается опусканием конденсора и сужением диафрагмы, при этом обычно пользуются объективом $\times 40$, реже – иммерсионным $\times 90$.

Более совершенными методами изучения живых объектов является темнопольная и фазово-контрастная микроскопия. Метод микроскопии в темном поле основан на освещении препарата лучами света, идущими в косом направлении и не попадающими в объектив, что делает поле зрения темным. В объектив попадают только те лучи, которые отражаются от имеющихся в препарате микробов и на темном фоне хорошо видны яркие светящиеся изображения бактерий. Освещение препарата косыми лучами создается с помощью специального темнопольного конденсора с затемненной центральной частью. Метод микроскопии в темном поле повышает разрешающую способность в десять раз. Он особенно ценен при изучении спирохет и наблюдения за подвижностью микробов.

Контрольные вопросы

1. Что представляет собой капсула микробной клетки? Её химический состав и значение.
2. Какие микробы образуют капсулу только в организме и постоянно?
3. Как обнаружить капсулу у бактерий?
4. Строение клеточной стенки у бактерий, её значение.
5. Как называются микробы, лишенные полностью или частично клеточной стенки?

6. Цитоплазматическая мембрана, её состав и значение для микробов.

7. Цитоплазма бактерий, её строение, значение.

8. Включения бактериальной клетки, их значение.

9. Волютиновые зерна, их химический состав, значение.

Методы окраски.

10. Ядерный аппарат бактерий, его значение?

11. Что такое плазмиды, их роль?

12. Чем обусловлена подвижность бактерий? Строение, химический состав и функция жгутиков. Выявление подвижности у бактерий.

13. Что представляют собой пили у бактерий, их виды и значение?

Учебно-теоретическая работа 5

Контрольная работа 1 по разделу: МОРФОЛОГИЯ (Собеседование, тестовый контроль, ситуационные задачи)

Контрольные вопросы

Предмет и задачи микробиологии, основные этапы в развитии микробиологии. Исследования Самойловича, Пастера, Коха, Мечникова, Ивановского, Зильбера, Здродовского, Ермольевой, Эрлиха, Борде.

2. Систематика и номенклатура бактерий. Основные принципы классификации микроорганизмов. Понятие рода, вида, подвида, серовара, хемовара, фаговара.

3. Что означают микробиологические термины: популяция, клон, штамм?

4. Микроскопические методы исследования. Микроскопы: биологический, люминесцентный, фазово-контрастный, электронный, ультрамикроскоп – их устройство, принцип работы. Иммерсионная система.

5. Основные формы прокариот – кокки, палочки, извитые, нитевидные.

6. Этапы приготовления мазка из культуры бактерий, мокроты, крови, гноя.

7. Тинкториальные свойства и методы окраски микроорганизмов (простые и сложные).
8. Приготовление мазка из зубного налета и окраска по Бурри.
9. Строение прокариотической клетки. Структуры обязательные и необязательные (включения), значение, функции.
10. Ядерный аппарат бактерий, плазмиды. Их роль, структура.
11. Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий.
12. Механизм и этапы окраски по Граму. В какой цвет окрашиваются кокки, палочки, извитые формы и почему?
13. Протопласты, сферопласты, L-формы: условия образования, значение.
14. Кислотоустойчивые бактерии. Механизм и этапы окраски по Цилю – Нильсену. Чем обуславливается кислотоустойчивость бактерий?
15. Капсула: строение, значение, способы выявления. Нарисовать бактерии, образующие капсулу постоянно и только в организме.
16. Спорообразование, условия, стадии. Отличие различных видов спорообразующих микробов. Обнаружение споры, окраска простым и сложным способом. Нарисовать микробы, образующие споры.
17. Жгутики у бактерий. Подвижность и методы изучения в препаратах «раздавленная» и «висячая» капля. Нарисовать бактерии монотрихи, перитрихи, амфитрихи, лофотрихи.
18. Пили (фимбрии), виды, значение.
19. Волутиновые зерна: состав, значение, окраска по Леффлеру и Нейссеру. Нарисовать микробы.
20. Морфология, особенности строения и размножения актиномицетов, микоплазм, хламидий, спирохет, риккетсий.

Билет 1

1. Нарисовать и написать латинские названия грамположительных микробов. Методика окраски по Граму. От чего зависит отношение микробов к окраске по Граму?

2. Понятие о виде, штамме, клоне бактерий, бактериальной культуре.

3. Цитоплазматические включения бактерий, их химическая природа, значение. Примеры микроорганизмов, для которых характерно наличие зерен волютина. Методы выявления зерен волютина.

4. Роберт Кох, его вклад в развитие микробиологии.

Тесты

1. Структуры, обязательные для L-форм бактерий:

1. Клеточная стенка.
2. Цитоплазматическая мембрана.
3. Капсула.
4. Жгутики.
5. Нуклеоид.

2. Значение зерен волютина:

1. Защита от неблагоприятных факторов.
2. Сохранение формы.
3. Запас питательных веществ.
4. Участие в размножении.
5. Дифференциальный признак.

3. Перитрихи – это бактерии с:

1. Одним жгутиком.
2. Двумя полярно расположенными жгутиками.
3. Пучком жгутиков на конце.
4. Множеством жгутиков, расположенных на поверхности бактериальной клетки.
5. Тремя жгутиками.

4. К перитрихам относятся:

1. Холерный вибрион.
2. Спириллы.
3. Хеликобактеры.
4. Эшерихии.
5. Сальмонеллы.

5. При фиксации мазка происходит:

1. Гибель микробов.

2. Прикрепление к стеклу.
3. Усиление восприимчивости к красителю.
4. Увеличение пептидогликана в клеточной стенке.
5. Уменьшение пептидогликана в клеточной стенке бактерий.

6. Нуклеоид – это:

1. Аналог ядра у бактерий.
2. Обладает мембраной, ядрышком.
3. Бактериальная ДНК связана с основными белками-гистонами.
4. Расположен диффузно и представлен фибриллами.
5. Представляет собой двух нитевую ДНК, замкнутую в кольцо.

Билет 2

1. Возбудители каких заболеваний являются кислотоустойчивыми? Методика их окраски. Чем обуславливается кислотоустойчивость?

2. Нарисовать и написать латинские названия капсульных микробов. Значение и методы выявления капсул.

3. Хламидии. Особенности морфологии, цикл внутриклеточного развития. Какая форма хламидий является инфекционной? Методы выявления хламидий.

4. Биологический микроскоп, принцип устройства и работы, иммерсионная система.

Тесты

1. Прокариотическая клетка имеет:

1. Морфологически оформленное ядро.
2. Нуклеоид (двунитевая молекула ДНК, замкнутая в кольцо).
3. Ядерную мембрану.
4. Мезосомы.
5. Митохондрии.

2. Фазово-контрастная микроскопия используется при изучении препаратов:

1. Окрашенных по Граму.
2. Нативных «раздавленная» или «висячая» капли.

3. Фиксированных метиловым спиртом.
4. Окрашенных по Цилю – Нильсену.
5. Верно все перечисленное.

3. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:

1. Цитоплазматическая мембрана.
2. Цитоплазма.
3. Нуклеоид.
4. Жгутики.
5. Капсула.

4. Морфологические структуры, обуславливающие положительную или отрицательную окраску по Граму:

1. Клеточная стенка.
2. Цитоплазматическая мембрана.
3. Цитоплазма.
4. Нуклеоид.
5. Капсула.

5. Клеточная стенка грамположительных бактерий содержит:

1. Многослойный пептидогликан.
2. Однослойный пептидогликан.
3. Тейхоевые кислоты.
4. Липополисахарид.
5. РНК.

6. Таксономические категории, отражающие бинарную номенклатуру (название) микроорганизмов:

1. Царство, подцарство.
2. Отдел, класс.
3. Порядок, вид.
4. Семейство, род.
5. Род и вид.

Билет 3

1. Нарисовать и написать латинские названия спорообразующих микробов. Значение спор. Стадии спорогенеза. Методы окраски спор.

2. Волютиновые зерна. Химический состав, значение, методы окраски. Для возбудителя какого заболевания волютиновые зерна являются диагностическим признаком? Нарисуйте его.

3. Риккетсии, их таксономическое положение. Назовите патогенные для человека риккетсии и вызываемые ими заболевания. Морфологические особенности риккетсий. Формы существования риккетсий. Методы окраски риккетсий.

4. И.И. Мечников, его вклад в развитие микробиологии.

Тесты

1. Функция клеточной стенки:

1. Защитная.
2. Формообразующая.
3. Способность по-разному воспринимать красители.
4. Сохранение наследственной информации.
5. Избирательная проницаемость.

2. Бактерии, не имеющие клеточной стенки:

1. Риккетсии.
2. Спирохеты.
3. Микоплазмы.
4. Хламидии.
5. Актиномицеты.

3. Цитоплазматическая мембрана представляет собой:

1. Выраженный слизистый слой, покрывающий клеточную стенку.
2. Двойной фосфолипидный слой, пронизанный белковыми глобулинами.
3. Жизненно необходимый структурный компонент бактериальной клетки.
4. Сложную коллоидную систему.
5. Сложный нуклеопротеид.

4. Функции цитоплазматической мембраны:

1. Регуляция поступления в клетку метаболитов, ионов.
2. Участие в репликации ДНК.
3. Сохранение наследственной информации.

4. Участие в метаболизме.
5. Участие в спорообразовании.

5. Локализация наследственной информации в бактериальной клетке:

1. ЦПМ.
2. Митохондрии.
3. Мезосомы.
4. Нуклеоид.
5. Плазмиды.

6. В основе систематики микроорганизмов лежат свойства:

1. Морфологические.
2. Биохимические.
3. Аллергологические.
4. Физиологические.
5. Молекулярно-генетические.

Билет 4

1. Основные принципы систематики прокариотов, таксономические категории: семейство, род, вид, биовар, серовар, фаговар. Бинарная номенклатура бактерий, пример.

2. Этапы приготовления мазка из чистой культуры бактерий, методы окраски.

3. Спорообразование, условия, стадии. Расположение спор, окраска простым и сложным способом. Нарисовать микробы, образующие споры. Чем обусловлена устойчивость спор к воздействию факторов внешней сред?

4. Спирохеты, ультраструктура. Морфологические отличия спирохет рода *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira*. Микроскопическое изучение спирохет в живом состоянии в нативных препаратах. Темнопольная микроскопия, ее сущность и назначение.

Тесты

1. Роберт Кох разработал:

1. Метод выделения чистых культур бактерий.
2. Сформулировал понятие об иммунитете.

3. Предложил анилиновые красители и конденсор.
4. Открыл возбудителей туберкулеза, холеры.
5. Разработал серологические реакции.

2. Кислотоустойчивость бактерий связана с наличием:

1. Нуклеиновых кислот.
2. Жировосковых веществ.
3. Полисахаридов.
4. Многослойного пептидогликана.
5. Высоких концентраций солей.

3. Для морфологии спирохет характерно:

1. Палочковидная форма.
2. Дифференцированное ядро.
3. Эластическая осевая нить.
4. Активное движение.
5. Спорообразование.

4. Для риккетсий характерно:

1. Неклеточная структура.
2. Размножение делением.
3. Положительная окраска по Граму.
4. Полиморфизм.
5. Внутриклеточный паразитизм.

5. Капсулу только в организме образуют возбудители:

1. Холеры.
2. Туберкулеза.
3. Сибирской язвы.
4. Пневмонии.
5. Туляремии.

6. Роль капсулы в жизнедеятельности бактерий:

1. Усиливает болезнетворность.
2. Является обязательным структурным компонентом клетки.
3. Подавляет фагоцитоз.
4. Является осмотическим барьером.
5. Препятствует действию защитных факторов макроорганизма.

Билет 5

1. Механизм и этапы окраски по Граму. В какой цвет окрашиваются бактерии, почему? Нарисуйте и напишите латинские названия грамотрицательных микробов.

2. Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Значение клеточной стенки.

3. Простой способ окраски бактерий. Приготовление мазка по Бурри. Что выявляет метод Бурри?

4. Сравнительная характеристика боррелий, трепонем, лептоспир (размер, количество и расположение завитков), отношение к окраске по Романовскому – Гимзе.

Тесты

1. По количеству и расположению жгутиков различают:

1. Монотрихи.
2. Сферопласты.
3. Лофотрихи.
4. Протопласты.
5. Перитрихи.

2. Споры микроорганизмов имеют значение для:

1. Размножения.
2. Сохранения вида.
3. Идентификации.
4. Участвия в метаболизме.
5. Активного движения.

3. Споры образуют:

1. Бактерии.
2. Бациллы.
3. Клостридии.
4. Микоплазмы.
5. Хламидии.

4. Простой способ окраски позволяет определить в микробной клетке:

1. Споры.
2. Капсулу.

3. Кислотоустойчивость.
4. Отношение к окраске по Граму (положительное, отрицательное).

5. Волутиновые зерна.

5. Способность воспринимать красители (тинкториальные свойства) определяют структура и состав:

1. Цитоплазмы.
2. Нуклеоида.
3. Капсулы.
4. Клеточной стенки.
5. Плазмиды.

6. Капсулу бактерий выявляют:

1. В фазово-контрастном микроскопе.
2. Окраской по Бурри – Гинсу.
3. Окраской простым методом.
4. При электронной микроскопии.
5. В опыте плазмолиза клетки.

Билет 6

1. Кислотоустойчивые бактерии. Механизм и этапы окраски по Цилю – Нильсену. Чем обусловлена кислотоустойчивость бактерий?

2. Особенности строения клеточной стенки грамотрицательных микробов. Нарисовать и написать латинские названия грамотрицательных микробов.

3. Нуклеоид бактерий, структура, функции.

4. Actinomyces, формы существования actinomyces во внешней среде и в организме. Морфологические особенности actinomyces в чистой культуре и в пораженной ткани (друзы).

Тесты

1. Приготовление препарата для микроскопического исследования предусматривает:

1. Высушивание мазка на воздухе.
2. Высушивание мазка в пламени.

3. Фиксацию мазка в пламени.
4. Фиксацию мазка спиртом.
5. Окраску мазка без фиксации.

2. Окрашивание по методу Циля – Нильсена применяют для выявления:

1. Ядерной субстанции.
2. Включений.
3. Кислотоустойчивости.
4. Подвижности.
5. Капсулообразования.

3. Отношение микробов к окраске по Граму зависит от:

1. Формы и размера клетки.
2. Строения цитоплазматической мембраны.
3. Содержания пептидогликана в клеточной стенке.
4. Формы колоний.
5. Высоких концентраций солей.

4. Антоний Левенгук первым:

1. Создал теорию иммунитета.
2. Предложил питательные среды.
3. Открыл фагоцитоз.
4. Сконструировал микроскоп.
5. Увидел и нарисовал микробы.

5. Микоплазмы характеризуются отсутствием:

1. Цитоплазматической мембраны.
2. Цитоплазмы.
3. Нуклеоида.
4. Клеточной стенки.
5. Рибосом.

6. Споры микроорганизмов имеют значение для:

1. Размножения.
2. Сохранения вида.
3. Идентификации и дифференциации.
4. Участвия в метаболизме.
5. Сохранения источника инфекции.

Билет 7

1. Строение бактериальной клетки. Нуклеоид бактерий, отличие от ядра эукариотической клетки. Биологические функции нуклеоида, его химическая природа и строение. Цитоплазма бактерий. Перечислите структуры цитоплазмы, укажите отличия от эукариотических клеток.

2. Строение цитоплазматической мембраны бактериальной клетки, ее функции. Мезосомы, их строение, функции.

3. Споры бактерий, условия образования, значение. Процесс спорообразования, ультраструктура споры, ее прорастание. Нарисовать и написать латинские названия спорообразующих микробов. Методы выявления простым способом и окраска спор по способу Ожешко.

4. Морфология, ультраструктура спирохет, строение двигательного аппарата. Сравнительная характеристика боррелий, трепонем и лептоспир (размеры, количество и расположение завитков, отношение к окраске по Романовскому – Гимзе). Микроскопическое изучение спирохет в нативных препаратах, темнопольная микроскопия.

Тесты

1. Бактерии, не имеющие клеточной стенки:

1. Риккетсии.
2. Спирохеты.
3. Хламидии.
4. Микоплазмы.
5. Актиномицеты.

2. Цитоплазматическая мембрана бактерий:

1. Играет важную роль в обмене веществ.
2. Является осмотическим барьером.
3. Контролирует поступление и выход различных веществ из клетки.
4. Определяет форму клетки.
5. Сохраняет наследственную информацию.

3. Цитоплазма бактерий:

1. Сложная коллоидная система.
2. Содержит дифференцированное ядро.
3. Состоит из растворимых белков.
4. Содержит до 50000 рибосом.
5. Не содержит включений гликогена, крахмала, воллютина.

4. Мезосомы бактерий:

1. Производные клеточной стенки.
2. Производные ЦПМ.
3. Не связаны с нуклеоидом.
4. Участвуют в делении клетки.
5. Участвуют в спорообразовании.

5. Плазмиды:

1. Внехромосомные факторы наследственности.
2. Автономная кольцевая молекула ДНК.
3. Жизненно необходимая структура бактериальной клетки.
4. Обуславливает селективные преимущества.
5. Не способна к репликации.

6. Капсулу в организме образуют возбудители:

1. Сибирской язвы.
2. Чумы.
3. Туберкулеза.
4. Дизентерии.
5. Туляремии.

Билет 8

1. Клеточная стенка, ее строение у грамположительных и грамотрицательных бактерий, функции, техника окраски по Граму. Нарисовать грамположительные микробы (дать названия по латыни). Протопласты, сферопласты, L-формы бактерий, их свойства.

2. Ворсинки (пили, фимбрии), структура, значение.

3. Жгутики, типы расположения, ультраструктура, способы выявления жгутиков и подвижности. Нарисуйте подвижных микробов (дать названия по латыни).

4. Актиномицеты. Формы существования актиномицет во внешней среде, в чистой культуре и в организме. Отличительные морфологические особенности актиномицет, строение нити и дру-зы. Способы размножения.

Тесты

1. Роль капсулы в жизнедеятельности бактерий:

1. Усиливает болезнетворность.
2. Является обязательным структурным компонентом клетки.
3. Подавляет фагоцитоз.
4. Является осмотическим барьером.
5. Определяет форму клетки.

2. Капсула бактерий характеризуется:

1. Легкой окрашиваемостью.
2. Высоким содержанием полисахаридов.
3. Кислотоустойчивостью.
4. Антигенной специфичностью.
5. Присутствует у всех бактерий.

3. Капсулу бактерий выявляют окраской по:

1. Бурри – Гинсу.
2. Простым методом.
3. Нейссеру.
4. Цилю – Нильсену.
5. Ожешко.

4. Капсулу в организме образуют возбудители:

1. Туберкулеза.
2. Проказы.
3. Сибирской язвы.
4. Чумы.
5. Туляремии.

5. Структуры, обязательные для L-форм бактерий:

1. Клеточная стенка.
2. ЦПМ.
3. Капсула.
4. Цитоплазма.
5. Нуклеоид.

6. Морфологию спирохет изучают:

1. В препаратах «раздавленная» или «висячая» капля.
2. В мазках, окрашенных по Цилю – Нильсену.
3. С помощью фазово-контрастного микроскопа.
4. В мазках, окрашенных по Романовскому – Гимзе.
5. Электронно-микроскопическим исследованием.

Билет 9

1. Споры, условия и стадии образования и прорастания спор, строение, значение. Примеры устойчивости спор к воздействиям внешней среды. Методы выявления спор. Нарисуйте бациллы и клостридии (дать названия по латыни).

2. Цитоплазматические включения, их химическая природа. Зерна волютина, значение, методы окраски. Для возбудителя какого заболевания волютиновые зерна имеют диагностическое значение? Нарисуйте его.

3. Спирохеты. Таксономическое положение. Биологические свойства, ультраструктура. Морфологические отличия спирохет рода *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira*. Методы изучения спирохет в живом состоянии. Методы окраски спирохет.

4. Фазово-контрастное устройство и ультрамикроскоп, принцип работы.

Тесты

1. Подвижность бактерий определяется:

1. Фазово-контрастной микроскопией.
2. Методом Бурри – Гинса.
3. Ультрамикроскопом.
4. В «раздавленной» капле.
5. Окраской по Граму.

2. Жгутики бактерий:

1. Участвуют в размножении.
2. Служат для сохранения вида.
3. Обуславливают подвижность.
4. Являются антигенами.
5. Состоят из белка флагеллина.

3. Пили (фимбрии, ворсинки) обуславливают:

1. Подвижность.
2. Передачу генетического материала.
3. Адгезию.
4. Репликацию.
5. Синтез белка.

4. Нативные (натуральные), неокрашенные препараты готовят для микроскопии:

1. Световой.
2. Темнопольной.
3. Фазово-контрастной.
4. Люминесцентной.
5. Электронной.

5. Приготовление препарата для микроскопического метода исследования предусматривает:

1. Высушивание мазка на воздухе.
2. Высушивание мазка в пламени.
3. Фиксацию мазка в пламени.
4. Окраску бактерий без фиксации.
5. Фиксацию мазка спиртом.

6. Хламидии:

1. Имеют уникальный внутриклеточный цикл развития.
2. Образуют споры.
3. Грамотрицательные прокариоты.
4. Подвижные.
5. Кокковидные.

Билет 10

1. Нуклеоид бактерии, отличие от ядра эукариотической клетки. Биологические функции нуклеоида, химическая природа и строение.

2. Техника и этапы приготовления препарата-мазка. Способы фиксации мазка, ее значение.

3. Споры бактерий, условия образования, значение. Стадии спорообразования и прорастания спор, нарисовать и написать

латинские названия спорообразующих микробов. Методы окраски спор.

4. Морфологические особенности хламидий, цикл внутриклеточного развития. Какая форма хламидий является инфекционной? Методы выявления хламидий.

Тесты

1. Окраска по Нейссеру используется для выявления:

1. Спор.
2. Жгутиков.
3. Ядерной субстанции.
4. Зерен волютинина.
5. Капсулы.

2. При окраске по Граму применяют:

1. Карболовый раствор фуксина.
2. Карболовый раствор генцианвиолета.
3. Водный раствор фуксина.
4. Обработку серной кислотой.
5. Обесцвечивание спиртом.

3. Структуры обязательные для бактерий:

1. Капсула.
2. Споры.
3. Нуклеоид.
4. Цитоплазматическая мембрана.
5. Жгутики.

4. Ядро бактерий:

1. Расположено диффузно.
2. Имеет ядерную оболочку.
3. Является хромосомой.
4. Двунитчатая кольцевая ДНК.
5. Однонитевая РНК.

5. Бактерии, не имеющие клеточной стенки:

1. Риккетсии.
2. Хламидии.
3. Спирохеты.
4. Микоплазмы.

5. Актиномицеты.

6. Микоплазмы имеют:

1. Волутиновые зерна.
2. Клеточную стенку.
3. Капсулу.
4. Диффузно расположенное ядро.
5. Цитоплазматическую мембрану.

Билет 11

1. Тинкториальные свойства и методы окраски микроорганизмов (простые и сложные). Этапы окраски микробов по Граму. Отчего зависит результат окраски грамположительных и грамотрицательных клеток? Нарисовать грамположительные микробы и написать латинские названия.

2. Строение клетки бактерий. Составные части клетки, значение, функции, способы изучения.

3. Риккетсии. Таксономическое положение. Биологические свойства. Морфологические типы риккетсий. Методы окраски по Здродовскому, Романовскому – Гимзе. Облигатный внутриклеточный паразитизм риккетсий. Методы культивирования. Роль риккетсий и коксии в инфекционной патологии.

4. Люминесцентный микроскоп, принцип работы.

Тесты

1. Простой метод окраски позволяет в микробной клетке:

1. Выявить оболочку.
2. Определить форму.
3. Обнаружить капсулу.
4. Выявить споры.
5. Изучить структуру нуклеоида.

2. Зерна волутина выявляют при окраске по методу:

1. Грама.
2. Циля – Нильсена.
3. Леффлера.
4. Бурри – Гинса.
5. Нейссера.

3. При окраске по Нейссеру используют:

1. Раствор генцианвиолета.
2. Щелочной раствор метиленовой сини.
3. Уксусно-кислый раствор метиленовой сини.
4. Раствор везувина.
5. Спирт.

4. Плазмиды – это:

1. Внехромосомные факторы наследственности.
2. Жизненно необходимая структура бактериальной клетки.
3. Придают бактериям определенные селективные преимущества.
4. Автономная кольцевая молекула двунитевой ДНК.
5. Не способны к автономной репликации.

5. Мезосомы бактерий:

1. Являются эквивалентом ядра.
2. Производные цитоплазматической мембраны.
3. Не связаны с нуклеоидом.
4. Участвуют в делении клеток.
5. Участвуют в спорообразовании.

6. Значение цитоплазматической мембраны бактерий:

1. Регулирует поступление в клетку метаболитов и ионов.
2. Сохраняет наследственную информацию бактериальной клетки.
3. Участвует в репликации ДНК.
4. Отграничивает цитоплазму.
5. Обладает избирательной проницаемостью.

Билет 12

1. Капсула: строение, значение, способы выявления. Нарисовать бактерии, образующие капсулу *in vivo*.

2. Волутиновые зерна: состав, значение, окраска по Леффлеру, по Нейссеру. Нарисовать бактерии, содержащие волутиновые зерна.

3. Источники генетического материала бактерий. Ядерный аппарат бактерий, плазмиды, их роль и значение.

4. Хламидии, таксономическое положение, особенности морфологии. Ультраструктура элементарных и ретикулярных телец, методы изучения. Роль хламидий в инфекционной патологии человека.

Тесты

1. Кислотоустойчивость микроорганизмов связана с наличием:

1. Нуклеиновых кислот.
2. Жировосковых веществ.
3. Полисахаридов.
4. Высоких концентраций солей.
5. Многослойного пептидогликана.

2. К кислотоустойчивым бактериям относятся возбудители:

1. Пневмонии.
2. Актиномикоза.
3. Туберкулеза.
4. Бруцеллеза.
5. Проказы.

3. Луи Пастер:

1. Сконструировал первый микроскоп.
2. Доказал, что каждый вид брожения имеет своего возбудителя.
3. Открыл возбудителя родильной горячки, фурункулеза, остеомиелита.
4. Основоположник химиотерапии.
5. Изготовил вакцину против бешенства, сибирской язвы.

4. Микоплазмы характеризуются:

1. Наличием клеточной стенки.
2. Отсутствием цитоплазматической мембраны.
3. Полиморфизмом.
4. Абсолютным внутриклеточным паразитизмом.
5. Грамотрицательной окраской.

5. При окраске по методу Грама применяют:

1. Карболовый раствор фуксина.
2. Карболовый раствор генцианвиолета.
3. Водный раствор фуксина.

4. Обесцвечивание спиртом.
5. Водный раствор метиленовой сини.

6. Окраска по Нейссеру используется для выявления:

1. Спор.
2. Жгутиков.
3. Ядерной субстанции.
4. Зерен волютина.
5. Капсулы.

Билет 13

1. Основные принципы систематики прокариот. Таксономические категории.

2. Нуклеоид бактерий, его отличие от ядер эукариотической клетки. Биологические функции нуклеоида, его химическая природа и строение.

3. Цитоплазматические включения бактерий, их химическая природа, значение. Примеры микроорганизмов, для которых характерно наличие зерен волютина. Методы выявления зерен волютина.

4. Морфологические особенности микоплазм. Изучение морфологии микоплазм в фазово-контрастном микроскопе. Перечислите патогенные микоплазмы, какие заболевания они вызывают? L-формы бактерий, условия возникновения, морфологические особенности, способность к реверсии. Методы выявления L-форм. В чем сходство микоплазм с L-формами?

Тесты

1. Прокариотическая клетка имеет:

1. Морфологически оформленное ядро.
2. Ядерную мембрану.
3. Аппарат Гольджи.
4. Мезосомы.
5. Митохондрии.

2. Микроорганизмы, относящиеся к прокариотам:

1. Бактерии.
2. Простейшие.

3. Риккетсии.
4. Актиномицеты.
5. Микоплазмы.

3. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:

1. Нуклеоид.
2. Спора.
3. ЦПМ.
4. Капсула.
5. Цитоплазма.

4. Споры микроорганизмов имеют значение для:

1. Размножения.
2. Сохранения вида.
3. Идентификации.
4. Участия в метаболизме.
5. Синтезе белка.

5. Роль капсулы в жизнедеятельности бактерий:

1. Усиливает болезнетворность.
2. Является обязательным структурным компонентом клетки.
3. Препятствует фагоцитозу.
4. Является осмотическим барьером.
5. Обладает антигенными свойствами.

6. Нуклеоид:

1. Аналог ядра.
2. Кольцевая, двунитевая ДНК, расположенная диффузно в цитоплазме клетки.
3. Связан с основными белками-гистонами.
4. Расположен компактно, обладает мембраной и ядрышком.
5. Сохраняет и передает наследственную информацию.

Раздел: ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учебно-исследовательская работа 6

Тема: СТЕРИЛИЗАЦИЯ. ПИТАНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАКТЕРИЙ

План

1. Стерилизация, дезинфекция, дезинсекция, дератизация, антисептика, асептика.
2. Методы стерилизации и аппаратура.
3. Питание бактерий и их классификация по типам питания.
4. Принципы культивирования бактерий.
5. Питательные среды: классификация, требования, приготовление.

Практическое задание и методика работы

1. Ознакомление с аппаратурой, методами и режимом стерилизации, контролем стерильности.
2. Горячая и холодная стерилизация:
 - а) прокаливание в пламени (фламбирование) спиртовки бактериальных петель, игл, пинцетов, предметных стекол;
 - б) кипячение в стерилизаторе шприцев, инструментов;
 - в) стерилизация в сухожаровой камере-печи Пастера;
 - г) стерилизация в автоклаве в режимах:
 - паром под давлением;
 - текучим паром;
 - д) тиндализация;
 - е) пастеризация.
 - ж) механическая стерилизация с помощью фильтров асбестовых, фарфоровых, каолиновых;
- з) стерилизация воздуха помещений УФЛ (кварцевание).

Теоретический блок

Основные методы обеззараживания материала, контаминированного микроорганизмами

Стерилизация – это уничтожение на (или в, например, в жидких формах) объектах внешней среды всех форм микроорганизмов (т. е. полное обеспложивание).

Существует три основных метода стерилизации: тепловая, лучевая, химическая.

Тепловая стерилизация – наиболее надежный, экологически безопасный, дешевый и хорошо контролируемый метод, однако его невозможно применять тогда, когда предметы повреждаются от высокой температуры. Метод основан на чувствительности микробов к высокой температуре. При температуре 60 °С и наличии воды в микробной клетке происходит денатурация белка, деградация нуклеиновых кислот, вследствие чего вегетативные формы микробов погибают. Споры, содержащие воду в связанном состоянии и обладающие плотными оболочками, устойчивы к такой температуре и инактивируются при 160–170 °С.

В микробиологической практике наиболее распространенным и надежным способом уничтожения микробов является применение высокой температуры.

Прокаливание на огне – самый эффективный способ стерилизации петель, игл для посевов, мелкого инструментария.

Кипячение в воде в течение 45 мин используют для стерилизации инструментов, шприцев.

Стерилизация сухим жаром производится в печах Пастера или сухожаровых камерах, которые представляют собой металлический шкаф, покрытый снаружи асбестом для сохранения тепла. Сверху через отверстие в крышке помещен термометр, опускающийся внутрь аппарата.

Подготовленный материал ставят в печь и стерилизуют при температуре 165–175 °С в течение 45 мин, считая с того момента, когда ртуть в термометре поднимется до этого показателя, который должен оставаться постоянным все время стерилизации. Выше 170 °С начинается обугливание бумаги, а при более низкой

температуре требуется большой срок стерилизации. Сухим жаром стерилизуют всю стеклянную посуду, градуированные и пастеровские пипетки. Перед стерилизацией посуда должна быть вымыта, высушена и завернута в бумагу. Пробирки, колбы, флаконы закрывают ватно-марлевыми пробками. Пробирки заворачивают в бумагу по 10–15 штук, градуированные пипетки – по 1–3 штуки. Можно стерилизовать пипетки и чашки в особых металлических футлярах.

Критерием достаточной стерилизации является легкое пожелтение бумаги, в которую завернуты стерилизуемые предметы. По окончании стерилизации печь открывают только после того, как она остынет, иначе вследствие резкой перемены температуры стеклянные предметы могут лопнуть.

Стерилизация паром не требует такой высокой температуры, как стерилизация сухим жаром, пар действует на микробы сильнее. Обеспложивание паром производится при температуре 100–120 °С двумя способами: 1) стерилизация насыщенным паром под давлением или 2) стерилизация текучим паром.

Стерилизация паром под давлением – самый эффективный в микробиологической практике способ стерилизации, так как с его помощью быстро достигается полное и надежное обеспложивание, включая и спороносные бактерии. Этот способ стерилизации основан на том, что образующийся при кипении воды пар не выходит наружу, а скапливаясь в замкнутом пространстве, повышает давление. Соответственно давлению увеличивается и температура кипения воды: при повышении давления на 0,5 атм. температура кипения равна 110 °С, на 1 атм. – 121 °С, 1,5 атм. – 127 °С, на 2 атм. – 134 °С. При такой температуре микроорганизмы и их споры погибают очень быстро (при 120 °С – в течение 15–20 мин).

Этим способом стерилизации пользуются для обеспложивания питательных сред (за исключением тех, которые не выносят высокой температуры), посуды, инструментов и т. д. Стерилизация паром под давлением производится в автоклавах.

Автоклав представляет собой прочный цилиндрический медный котел на ножках с толстыми двойными стенками и герметически закрывающейся при помощи особых винтов массивной

крышкой. На крышке (или сбоку) находятся манометр, предохранительный клапан и выпускной кран. Нагрев электрический. Между стенками автоклава наливают воду. На подставке помещают в специальных биксах стерилизуемые предметы и закрывают крышку, сначала не закручивая ее герметически. Включают электронагреватель, доводят воду до кипения, образующийся при этом пар выходит через выпускной кран вместе с воздухом. Когда весь воздух вытеснен и выделяется непрерывная струя пара, герметически закручивают крышку и закрывают выпускной кран. Пар оказывается в замкнутом пространстве, и начинается повышение давления и температуры. На манометрах принято обозначать в атмосферах только избыточное давление, причем нормальное атмосферное давление (760 мм рт. ст.) считается равным нулю. Когда манометр покажет нужную высоту давления (1–2 атм.), регулируют нагрев так, чтобы это давление держалось 15–20 мин, после чего нагрев отключают и ждут, когда стрелка манометра упадет до 0. Только после этого открывают выпускной кран, откручивают и открывают крышку автоклава. Если открыть автоклав раньше, то вследствие быстрого падения давления стерилизуемая жидкость закипит, вытолкнет пробку и выплеснется из посуды.

Предохранительным клапаном автоклав снабжается на тот случай, если давление достигнет предела, тогда клапан автоматически открывается и вырывающаяся со свистом струя пара «предупреждает» о необходимости немедленно прекратить нагрев автоклава, чтобы давление больше не повышалось (иначе автоклав может взорваться).

Современные автоклавы могут иметь также горизонтальное расположение с помещенным внизу водонагревательным прибором.

Стерилизация текущим паром производится в аппарате Коха, представляющем собой высокий металлический цилиндр, обложенный снаружи асбестом или линолеумом, с двойным дном и негерметично закрывающейся крышкой. На дно аппарата наливают воду, подогреваемую снизу до кипения. Образующийся пар выделяется через края неплотно закрытой крышки. Стерилизацию производят в течение 30–40 мин с момента выделения пара.

Стерилизацию текучим паром можно производить и в автоклаве. В таком случае, крышка автоклава остается незавинченной, а выпускной кран – открытым. Пар выделяется через щель между крышкой и котлом автоклава и через выпускной кран. Время стерилизации отмечается с момента выхода непрерывной струи пара, когда температура достигает 100 °С. Текучим паром стерилизуют предметы, портящиеся от действия высокой температуры. Однократная стерилизация текучим паром не обеспечивает полного обеспложивания стерилизуемых объектов, так как при температуре 100 °С гибнут вегетативные формы, но не споры бактерий. Полное обеспложивание при помощи текучего пара достигается лишь при повторных стерилизациях. Этот метод носит название дробной стерилизации.

Дробной стерилизации подвергаются материалы, портящиеся от сухого жара и продолжительного действия пара, не переносящие температуры выше 100 °С (желатина, молоко, питательные среды с углеводами).

В основу метода дробной стерилизации положен следующий принцип. Убивая при температуре 100 °С вегетативные формы бактерий, оставшимся спорам дают прорасти в вегетативные формы. Через сутки снова стерилизуют материал при 100 °С. Обычно после третьей стерилизации при 100 °С материал оказывается освобожденным от бактерий и спор.

Стерилизация текучим паром при 100 °С производится 3 дня подряд по 20–30 мин. В промежутках стерилизуемый материал находится при комнатной температуре. За этот срок споры должны прорасти в вегетативные формы, которые уничтожаются последующим нагреванием до 100 °С.

Тиндализация, предложенная Тиндалем, представляет собой дробную стерилизацию при низкой температуре объектов, не переносящих температуры 100 °С (сыворотки, желатина, витамины). Их подвергают нагреванию в течение 5–6 дней подряд при более низкой температуре (например, при 56–58 °С) по 1 часу ежедневно (первый день – в течение 2 час.). Тиндализация проводится на водяных банях или в специальных сосудах с терморегуляторами.

Пастеризация была предложена Пастером для частичного (неполного) обеспложивания жидкостей, теряющих свои качества под действием высокой температуры (молоко, вино и т. д.). Способ основан на том, что при нагревании жидкости до 50–60 °С в течение 15–30 мин или 70–80 °С в течение 5–10 мин погибает большинство беспоровых микробов (в том числе и патогенные); споры же, если они содержатся в данной жидкости, остаются жизнеспособными. Поэтому во избежание их прорастания пастеризованный продукт необходимо хранить на холоде.

Тепловая стерилизация – наиболее надежный, экологически безопасный, дешевый и хорошо контролируемый метод. Однако его невозможно применять тогда, когда предметы повреждаются от действия высокой температуры.

Контроль стерилизации. Косвенно о поддержании определенной температуры при стерилизации можно судить по изменению окраски химических индикаторов – бензойной кислоты, мочевины, запаянных в ампулы, которые помещают на поверхности и в глубине стерилизуемого объекта.

При биологическом контроле внутрь стерилизуемых предметов помещают биотесты, приготовленные из термоустойчивых бацилл с последующим посевом на соответствующие питательные среды. С этой же целью производят посев кусочков материала, смывов с предметов, подвергшихся стерилизации, на среды, позволяющие обнаружить аэробные и анаэробные бактерии, грибы. Отсутствие роста после 14 дней инкубации в термостате свидетельствует о стерильности предмета.

Стерилизация фильтрованием – механический способ фильтрации, как способ освобождения от микробов, производится в тех случаях, когда материал не может быть подвергнут нагреванию (например, сыворотка, ряд лекарственных веществ и т. д.).

Для этой цели изготавливают фильтры из инфузорной земли, фарфора, каолина, асбеста с настолько мелкими порами, что они не пропускают микробов. Фильтры готовятся в виде цилиндрических свечей (фильтр Шамберлана, Беркефельда) или асбестовых пластинок (фильтр Зейтца).

Фильтрацию производят или под повышенным давлением, вследствие чего жидкость нагнетается через поры фильтра в приемник, или же создается разрежение в приемнике и жидкость всасывается в него через фильтр. Поэтому к фильтрующему прибору присоединяется нагнетающий или разрежающий насос. Стерильность профильтрованной жидкости проверяется путем ее посева на питательную среду – посев должен оставаться стерильным. Прибор для фильтрации должен быть предварительно простерилизован в автоклаве.

Химическая стерилизация. Предполагает использование токсических газов: 1) оксида этилена и 2) смеси оксида этилена, бромистого метила и формальдегида. Эти вещества в клетках микроорганизмов способны инактивировать ферменты, ДНК, РНК, что приводит к их гибели.

Стерилизация газами осуществляется в присутствии пара при температуре от 18 до 80 °С в специальных камерах. В них стерилизуют оптические приборы, радиоэлектронную аппаратуру, эндоскопы, питательные среды с белком.

Лучевая стерилизация осуществляется либо с помощью гамма-излучения, либо с помощью ускоренных электронов. Источником гамма-излучения, получаемого в специальных гамма-установках, являются радиоактивные изотопы ^{60}Co , ^{137}Cs . Гибель микробов происходит в результате повреждения нуклеиновых кислот. Лучевая стерилизация позволяет обрабатывать сразу большое количество предметов: одноразовых шприцев, систем для переливания крови и т. д.

Ультрафиолетовое облучение производится с помощью специальных бактерицидных ламп – настенных, потолочных, передвижных для обеззараживания воздуха, различных поверхностей в операционных, перевязочных, микробиологических лабораториях и т. д. Действие ультрафиолетовых лучей приводит к разрушению ДНК микробов.

Комплексные методы обеззараживания материала

Дезинфекция – это мероприятия, направленные на уничтожение или резкое подавление численности патогенных и услов-

но-патогенных микроорганизмов во внешней среде, на объектах и в изделиях. Целью дезинфекции является предупреждение или прерывание передачи возбудителей от больных здоровым через объекты внешней среды. Используют следующие методы дезинфекции:

Механический – встряхивание, обработка пылесосом, влажная уборка, стирка, мытье.

Физический – кипячение, сжигание, ультрафиолетовое облучение.

Химический – применяется для обработки помещений, оборудования и различных предметов. Дезинфектанты: 1) хлорсодержащие препараты – хлорная известь, хлорамин, хлоргексиды, биглюконат; 2) альдегиды – раствор формальдегида; 3) производные фенола, гексахлорофен, резорцин, хлорофен, тимол.

Дератизация – комплекс мероприятий, направленный на уничтожение мышевидных грызунов, являющихся источником инфекции.

Дезинсекция – уничтожение ползающих, летающих насекомых и членистоногих – переносчиков инфекции.

Антисептика – совокупность мер, направленных на уничтожение микробов в ране, патологическом очаге или организме в целом, на предупреждение или ликвидацию воспалительного процесса. Для обработки живых тканей применяют антисептики: спирты, йодсодержащие препараты, кислоты – борную, бензойную, уксусную и салициловую; из щелочей наиболее распространен раствор аммиака (нашатырный спирт, содержащий 9–10 % аммиака); красители – бриллиантовый зеленый, метиленовый синий, риванол, основной фуксин; окислители – перекись водорода и перманганат калия (марганцовка); для обработки рук хирурга применяются спиртосодержащие вещества в сочетании с другими антисептическими средствами.

Асептика – это комплекс мер, направленных на предупреждение попадания возбудителя инфекции в рану, органы больного при операциях, лечебных и диагностических процедурах. Асептика включает: стерилизацию и сохранение стерильности инструментов, перевязочного материала, операционного белья, перчаток и всего,

что приходит в соприкосновение с раной; дезинфекцию рук хирурга, операционного поля, аппаратуры операционной и других помещений, применение специальной одежды, масок.

Питательные среды для культивирования микробов

Разнообразные свойства микроорганизмов могут изучаться только в условиях, когда им обеспечена возможность расти, размножаться и проявлять свою жизнедеятельность. Одним из таких условий является применение соответствующих питательных сред, которые используются с целью:

- 1) выделения и изучения свойств возбудителей при диагностике инфекционных заболеваний;
- 2) накопления микробной массы для приготовления диагностических и лечебно-профилактических препаратов.

Основные требования, предъявляемые к питательным средам:

- оптимальное содержание питательных веществ, необходимых для жизнедеятельности микроорганизмов;
- соответствующее значение рН среды;
- изотоничность;
- влажность;
- прозрачность;
- абсолютная стерильность.

Классификация питательных сред

1. По консистенции: *жидкие, полужидкие, плотные*. Плотность создается добавлением к жидким средам 2–3%-ного агара, обладающего способностью растворяться при 100 °С и застывать при комнатной температуре. Агар – полисахарид, полученный из морских водорослей.

2. По происхождению: естественные, искусственные, синтетические.

Естественные среды готовят из овощей (картофель, морковь), молока, яиц, сыворотки крови и т. д.

Искусственные включают переработанные естественные продукты: например, мясную воду, гидролизат кильки и веществ-

ва, полученные из естественных продуктов – пептон, дрожжевой и кукурузный экстракты и др.

Синтетические создают из химически чистых соединений с точно известным составом (аминокислоты, углеводы, витамины, минеральные соли).

3. По целевому назначению: основные и специальные.

Основные это простые или универсальные. Простой питательный бульон (ППБ) готовят из белковых гидролизатов, содержащих полный набор аминокислот, пептидов и пептонов. Простой питательный агар (ППА) состоит из гидролизата дрожжей, натрия, хлорида, агара.

Специальные подразделяются на *сложные* с повышенной питательной ценностью, *элективные* накопления, *дифференциально-диагностические*.

Сложные – с обогащением простых сред углеводами (сахарный бульон, сахарный агар), или сывороткой (сывороточный бульон, сывороточный агар), или кровью (кровяной бульон, кровяной агар), или асцитической жидкостью (асцит-бульон, асцит-агар).

Элективные, или избирательные среды, на которых растет один вид микроба, рост других подавляется.

Примеры:

а) *желчный бульон* элективен для сальмонелл, размножение которых стимулирует добавление в среду 10%-ной желчи, одновременно тормозящее рост сопутствующих микробов;

б) *желточно-солевой агар* (ЖСА) элективен для стафилококков, размножающихся при содержании в среде 20%-ного хлорида натрия, тогда как другие микробы не выносят такой повышенной концентрации (оптимальное содержание хлорида натрия для большинства микробов – 0,5 %);

в) *щелочной агар*, 1%-ная щелочная пептонная вода элективны для холерного вибриона, который быстро размножается при рН 8,0–8,5 (оптимальная рН для большинства микробов – 7,2–7,4).

Среды накопления. Селенитовая среда применяется для накопления патогенных энтеробактерий, в которой добавленный 10%-ный раствор кислого селенитового натра тормозит рост

сопутствующих микробов, не мешая размножению шигелл, сальмонелл.

Дифференциально-диагностические среды, на которых разные виды бактерий дают своеобразный рост. Предназначены для изучения и индикации отдельных видов и типов бактерий. Различают следующие группы дифференциально-диагностических сред:

а) *содержащие белки* (кровь, желатина, молоко), дающие характерные изменения под действием бактериальных ферментов; их применяют для определения гемолитических или протеолитических свойств. Наиболее распространенными средами являются МПЖ (мясопептонная желатина), кровяной агар, молоко;

б) *содержащие углеводы и индикаторы*, позволяют дифференцировать эшерихии от сальмонелл и шигелл. Таковой является среда Эндо, в состав которой входят лактоза, МПА и основной фуксин, обесцвеченный сульфитом натрия (среда светло-розового цвета). При ферментации лактозы образуется кислота, которая реагирует с сульфитом натрия и окрашивает колонии в ярко-красный цвет. Поэтому эшерихии, ферментирующие лактозу, образуют красные колонии с металлическим блеском, а сальмонеллы и шигеллы, не ферментирующие лактозу, – бесцветные.

Различия в способности бактерий ферментировать углеводы с образованием кислоты, либо кислоты и газа, учитывают на средах Гисса с коротким или более длинным набором углеводов, спиртов, гликозидов.

Для дифференцировки энтеробактерий применяют среду Гисса, состоящую из пептонной воды, углеводов: лактозы, глюкозы, манита, мальтозы, сахарозы ферментацию которых до кислоты определяет индикатор бромкрезоловый пурпурный, изменяющий свой исходный фиолетовый цвет в желтый. Газообразование обнаруживают поплавки (стеклянные трубочки, запаянные с одной стороны), помещенные в каждую трубочку с углеводом.

Питательные среды выпускаются в сухом виде. Простой питательный бульон (ППБ) содержит триптический гидролизат кильки, натрия хлорид. Простой питательный агар (ППА) содержит гидролизат кормовых дрожжей, натрий хлорид, агар.

Техника приготовления основных питательных сред:

1) *простой питательный бульон* (ППБ) – навеску порошка, указанную на этикетке (например, 15 г), тщательно размешивают в колбе с 1 литром дистиллированной воды. Кипятят 1–2 мин, фильтруют через бумажный фильтр и разливают в пробирки или колбы. Стерилизуют при температуре 120°C в течение 20 мин;

2) *простой питательный агар* (ППА) – 30 г порошка размешивают в 1 литре дистиллированной воды, кипятят до полного расплавления агара (2–3 мин), фильтруют через ватный фильтр и стерилизуют при температуре 120 °С 30 мин. Затем разливают питательный агар в стерильные чашки Петри.

Для приготовления скошенного питательного агара пробирки с разлитым агаром оставляют застывать в металлической сетке или в наклонном положении на столе.

Контрольные вопросы

1. Что такое стерилизация, дезинфекция, дезинсекция, дератизация, асептика, антисептика?

2. Методы стерилизации:

- прокаливание на огне – фламбирование;
- кипячение;
- стерилизация сухим жаром в печи Пастера;
- стерилизация паром в автоклаве под давлением и текущим паром (дробная стерилизация). Какие материалы стерилизуются паром под давлением, текущим паром? Как контролировать эффективность стерилизации в автоклаве?
- тиндализация;
- пастеризация;
- механическая стерилизация с помощью бактериальных фильтров. Какие материалы обеззараживают этим методом?
- химические способы стерилизации;
- кварцевание воздуха.

3. Механизмы питания бактерий. Классификация бактерий по типам питания.

4. Питательные среды, требования к ним.

5. Классификация питательных сред по составу, консистенции и назначению.

6. Принцип приготовления основных питательных сред ППБ (МПБ), ППА (МПА).

Учебно-исследовательская работа 7

Тема: РАЗМНОЖЕНИЕ МИКРОБОВ. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ

План

1. Техника посева и пересева культуры микроорганизмов.
2. Методы выделения чистой культуры аэробных бактерий.
3. Методы выделения чистой культуры анаэробных бактерий.
4. Подсчет выросших колоний.

Теоретический блок

Методы выделения чистых культур бактерий – аэробов и факультативных анаэробов

Чистая культура – это рост одного вида бактерий на питательной среде. Выделение чистых культур бактерий является обязательным этапом бактериологического исследования в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний. Исследуемый материал (гной, мокрота, фекалии и др.) содержат ассоциации микробов. Установление вида возбудителя болезни и изучение его свойств возможно только при получении микробов в изолированном виде, т. е. в чистой культуре. Для этого производят первичный посев исследуемого материала на поверхность плотной питательной среды. После инкубации посевов при 37 °С в течение 24–48 час в термостате формируются колонии бактерий.

Колония – видимое невооруженным глазом на поверхности питательной среды изолированное скопление бактерий одного вида, выросших из одной клетки, т. е. потомство одной бактериальной клетки. Разные виды бактерий образуют колонии, отличающиеся по форме, размерам, прозрачности, характеру поверхности, пигменту, консистенции и т. д. Пересев изолированной колонии в пробирку на поверхность скошенного агара приводит к получению чистой культуры.

Для выделения чистой культуры бактерий используют методы, которые условно можно разделить на две группы:

а) методы, основанные на принципе механического разобщения микроорганизмов в питательной среде (Коха, Дригальского, посев петлей штрихами и др.);

б) методы, основанные на использовании биологических особенностей микроорганизмов.

Методы, основанные на принципе механического разобщения микроорганизмов в питательной среде

Метод Коха – последовательные разведения исследуемого материала в пробирках с расплавленным агаром, содержимое которых выливают в стерильную чашку Петри, где агар застывает. После инкубации в термостате на поверхности агара в чашках и внутри питательной среды вырастают изолированные колонии.

Метод Дригальского – рассев исследуемого материала по поверхности плотного питательного агара в чашке с помощью шпателя с целью получения изолированных колоний.

Этапы выделения

I этап (первый день): посев исследуемого материала на трех пронумерованных чашках Петри (I, II, III) с питательной средой. На поверхность питательной среды в первой чашке наносят пастеровской пипеткой или петлей каплю исследуемого материала и растирают ее стерильным шпателем по всей поверхности, затем той же стороной шпателя растирают материал по всей поверхности питательной среды второй и третьей чашек. Чашки надписывают (название материала, фамилия больного, дата) и ставят в термостат вверх дном, чтобы образующиеся капельки паров воды, попадающие на крышку, не стекали на поверхность и не размывали посев.

II этап (второй день): изучение колоний и выделение чистых культур. На чашке I, где было много материала, получился сплошной рост бактерий и отдельных колоний не видно. На чашке II и, в особенности, на чашке III выросли изолированные колонии различных бактерий, отличающиеся между собой по форме, вели-

чине, степени прозрачности, цвету, характеру поверхности и краев, консистенции, пригодные для выделения чистой культуры микроорганизма. Изолированную колонию снимают петлей и засевают на скошенный агар. Из остатка колонии готовят мазок и изучают при окраске по Граму.

III этап: идентификация, т. е. определение вида выделенной чистой культуры на основании изучения биологических свойств – морфологических, тинкториальных (отношение к окраске), культуральных (характер роста на жидких и плотных питательных средах), биохимических (ферментативных), вирулентных, токсигенных, антигенных, чувствительности к диагностическим фагам, чувствительности к антибиотикам и др. веществам.

Посев штрихами (посев петлей). Чашка Петри с питательной средой делится на 4 сектора карандашом по стеклу с внешней стороны чашки. Исследуемый материал петлей вносят в первый сектор и наносят параллельные линии по всему сектору на расстоянии около 5 мм. Этой же петлей наносят такие же линии последовательно на остальных секторах чашки. В том месте, где на агар попало большое количество микробных клеток, рост микроорганизмов будет в виде сплошного штриха. На секторах с небольшим количеством клеток вырастают отдельные колонии.

Методы выделения чистой культуры, основанные на использовании биологических особенностей микроорганизмов

1. *Применение элективных (избирательных) питательных сред.* Например, солевой агар для стафилококков, щелочной агар для холерных вибрионов, желчный бульон для сальмонелл и т. д.

2. *Кислотоустойчивость* микобактерий туберкулеза позволяет выделить их в чистой культуре, обрабатывая исследуемый материал (мокроту больного, где обилие кислотоустойчивых гноеродных и других бактерий) 5%-ным раствором серной кислоты. Неислотоустойчивые бактерии при такой концентрации кислоты погибают. Посев мокроты больного туберкулезом, обработанной кислотой, дает рост только культуры возбудителя туберкулеза.

3. *Термоустойчивость* спорообразующих микробов позволяет отделить их от неспорных форм. Исследуемый материал прогревают на водяной бане при 80 °С 15–20 мин. При этом погибают неспорные формы, а споры сохраняются и при посеве на соответствующую питательную среду прорастают.

4. *Метод Шужевича*: клетки бактерии (протей), характеризующиеся скользящим типом движения, засеянные в конденсационную жидкость скошенного агара, поднимаются («всползают») по поверхности среды и расселяются далеко за зону внесения исследуемого материала.

5. *Биологический метод* – заражают животных, восприимчивых к данному виду бактерий. У заболевших или погибших животных выделяют культуру из органов и крови. Например, высокая вирулентность *Streptococcus pneumoniae* для белых мышей позволяет выделить их в чистой культуре введением мокроты больного (содержащей большое количество сопутствующей микрофлоры) белым мышам внутрибрюшинно. После их гибели от пневмококковой септицемии из крови и органов выделяют чистую культуру.

Методы создания анаэробных условий

К облигатным анаэробам относятся клостридии – спорообразующие грамположительные палочковидные микроорганизмы. Патогенные клостридии образуют экзотоксины и вызывают тяжелые заболевания: газовую гангрену – *Cl. perfringens*, *Cl. novyi*, *Cl. septicum*, *Cl. histolyticum*; столбняк – *Cl. tetani*; ботулизм – *Cl. botulinum*. Наиболее строгими облигатными анаэробами являются неспорообразующие анаэробы, к которым относятся бактериоиды, представители родов *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* и *Fusobacterium* – грамотрицательные палочки, вызывающие гнойно-воспалительные процессы.

Взятие исследуемого материала осуществляется шприцем с притертым поршнем, после чего материал вносят в пробирки с транспортной средой. Выделение чистой культуры проводится со строгим соблюдением анаэробных условий на всех этапах исследования, лучше в анаэробных камерах.

Для культивирования облигатных анаэробов необходимы бескислородные анаэробные условия, которые могут быть созданы различными методами: физическим, механическим, химическим, биологическим.

Физические методы основаны на выращивании микроорганизмов в безвоздушной среде, что достигается:

- посевом в среды, содержащие редуцирующие и легко окисляемые вещества;
- посевом микроорганизмов в глубину плотных питательных сред;
- механическим удалением воздуха из сосудов, в которых выращиваются анаэробные микроорганизмы;
- заменой воздуха индифферентным газом.

В качестве *редуцирующих веществ* обычно используют кусочки (весом около 0,5 г) животных тканей (печень, почки, селезенка). Эти ткани связывают растворенный в среде кислород. Чтобы уменьшить содержание кислорода в питательной среде, ее перед посевом кипятят 10–15 мин, а затем быстро охлаждают и заливают сверху небольшим количеством вазелинового масла. В качестве легко окисляемых веществ используют глюкозу, лактозу.

Лучшей жидкой питательной средой с редуцирующими веществами является среда Китта – Тароцци, которая используется для выделения анаэробов при первичном посеве исследуемого материала.

Посев микроорганизмов в глубину плотных сред производят по методам Вейнберга и Виньяль – Вейона.

По Вейнбергу, сахарный агар наливают в пробирку с высоким столбиком и охлаждают до 42–45 °С, затем добавляют исследуемый материал, тщательно перемешивают. Пробирки ставят в штатив, питательная среда застывает и внутри нее (особенно в нижней части пробирки) создаются анаэробные условия.

Метод Виньяль – Вейона состоит в механической защите посевов анаэробов от кислорода воздуха. Берут стеклянную трубку длиной 30 см и диаметром 3–6 мм. Один конец трубки вытягивают в виде пастеровской пипетки. В пробирки с расплавленным

и охлажденным до 50 °С агаром засевают исследуемый материал, затем насыпают засеянный агар в стерильные трубки Виньяль – Вейона. Капиллярный конец трубки запаивают в пламени горелки, в противоположный конец трубки вставляют резиновую пробку. Так создаются благоприятные условия для роста самых строгих анаэробов. Для выделения отдельной колонии трубку надрезают напильником, соблюдая правила асептики, на уровне колонии ломают, колонию захватывают стерильной петлей и переносят и засевают в пробирку со скошенным агаром для получения чистой культуры.

Механические методы. Анаэроостат представляет собой толстостенный металлический цилиндр с хорошо притертой крышкой (с резиновой прокладкой), снабженный отводящим краном и вакуумметром. После размещения на подставке засеянных чашек или пробирок, воздух из анаэроостата удаляют с помощью вакуумного насоса, заменяют его газовой смесью, состоящей из азота, водорода, аргона, углекислого газа (можно использовать специальные пакеты, заполненные газовой смесью) и инкубируют в течение 2–3 суток в термостате при температуре 37 °С.

Химические методы основаны на поглощении кислорода воздуха в герметически закрытом сосуде (анаэроостате, эксикаторе) такими веществами, как пирогаллол или гидросульфит натрия.

Биологический метод (метод Фортнера) основан на совместном выращивании анаэробов со строгими аэробами. Для этого из застывшей питательной среды вырезают стерильным скальпелем полоску среды шириной около 1 см. На одну сторону засевают аэроб, например, *Staphylococcus aureus* или *Serratia marcescens*, на другую – анаэроб. Края чашки заливают расплавленным парафином и помещают в термостат. Сначала размножаются аэробы, после того как весь кислород в чашке будет использован, начнется рост анаэробов.

Практическое задание и методика работы

1. Сидя прямо перед горящей спиртовкой, берут пробирку с исследуемым материалом в левую руку, а петлю за петледержатель – в правую. Петлю прокалывают в пламени горелки. Пробку

вынимают из пробирки, зажимая её мизинцем и безымянным пальцем правой руки к ладони и обжигают край пробирки. Петлю вводят в пробирку, охлаждая о внутреннюю поверхность стекла, после чего легким скользящим движением берут материал. Затем вынимают петлю из пробирки, снова обжигают край и закрывают пробкой. Исследуемый материал петлей наносят на поверхность питательного агара, в верхней части чашки густо заштриховывают зигзагообразными движениями петли, освобождая от излишнего материала, затем наносят параллельные штрихи по остальной части среды. После посева петлю обязательно прокаливают в пламени. Чашки ставят в термостат вверх дном на сутки.

2. При просмотре чашек с ростом колоний из исследуемого материала изучают изолированные колонии, обращая внимание на их величину, форму, цвет, консистенцию, контуры края, структуру и характер поверхности.

3. Для выделения чистой культуры бактерий часть одной изолированной колонии снимают стерильной петлей, не задевая соседние колонии, и пересевают в пробирку со скошенным агаром. Для этого пробирку со скошенным агаром берут в левую руку, а правой вынимают пробку, как описано выше, и вносят петлю со снятой колонией, опуская её до конденсата в нижней части среды, зигзагообразным движением распределяют по скошенной поверхности агара. Вынув петлю, обжигают край пробирки, закрывают пробкой. Петлю стерилизуют в пламени горелки и ставят в штатив.

4. Техника посева бактерий на скошенный агар сводится к следующему. Пробирку с культурой и пробирку со стерильной средой берут в левую руку так, чтобы пробирка с культурой была ближе к работающему, а стерильная – дальше от него. Поверхности агара должны быть обращены кверху. В правую руку берут бактериальную петлю и прокаливают в пламени горелки, одновременно проводя через пламя часть рукоятки петледержателя. Следят за тем, чтобы прокаленная петля ни к чему не прикасалась.

5. Ватно-марлевые пробки обеих пробирок захватывают мизинцем и безымянным пальцами правой руки, вынимают и держат так, чтобы во время посева они так же ни к чему не прикасались.

Обжигают края открытых пробирок в пламени горелки, вводят простерилизованную остуженную петлю в пробирку с культурой и прикасаются к поверхности бактериального роста, легким скользящим движением набирают культуру и быстро переносят петлю в пробирку со стерильной средой. Петлю с культурой опускают до конденсационной воды и производят посев зигзагообразными движениями по скошенной среде агара. Вынув петлю, обжигают края пробирок и вставляют одновременно пробки в обе пробирки. Петлю прокаливают в пламени и ставят в штатив.

6. Техника пересева на жидкие питательные среды в основном такая же, как и на твердые. При работе с жидкими средами необходимо следить, чтобы жидкость не выливалась из пробирок и не смачивала их края и ватно-марлевые пробки.

7. Счет колоний. Для определения количества выросших колоний, а следовательно, степени загрязненности исследуемого материала, применяют прямой подсчет их при помощи лупы или, в случаях большого количества выросших колоний, по секторам, а также при помощи автоматического счетчика или специальной камеры Вольфгюгеля. При этом чашку Петри с посевом помещают под стекло камеры и подсчитывают число колоний в 10 больших квадратах. Вычисляют среднее число на один квадрат и узнают количество колоний на всей площади чашки по формуле: $N = x \cdot \pi r^2$, где N – число колоний на всей чашке, x – среднее число колоний на одном квадрате, $\pi = 3,14$, r – радиус чашки Петри = 5 см.

Контрольные вопросы

1. Что такое колония и чистая культура микроорганизмов?
2. Дайте определение понятий: вид, штамм, клон, культура-ра бактерий.
3. Методы и этапы выделения чистых культур аэробных бактерий. От чего зависит выбор определенного метода?
4. Какие бывают формы колоний микробов?
5. Какие признаки колоний имеют дифференциальное значение?
6. Для чего необходимо получить рост изолированных колоний?

7. Какие методы посева используют для получения изолированных колоний?
8. Какие правила необходимо соблюдать при посеве культуры?
9. Способы и цель подсчета колоний.
10. Биологическое окисление (дыхание) у анаэробных и аэробных бактерий.
11. Как создать бескислородные условия, необходимые для выращивания анаэробных бактерий?
12. Назовите облигатных анаэробов. Чем отличаются облигатные анаэробы от факультативных?
13. Что собой представляет анаэроустат?
14. Механизм и скорость размножения микробов. Фазы размножения бактериальной культуры в жидкой питательной среде в стационарных условиях.
15. Устройство и принцип работы термостата.

Учебно-исследовательская работа 8

Тема: ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

План

1. Ферменты бактерий. Значение при определении вида микроба.
2. Культуральные признаки. Характер роста на плотных и жидких средах. Колонии бактерий, критерии их оценки.
3. Биохимические признаки: углеводный и белковый обмен у бактерий, значение и методы изучения.
4. Пигменты микробов, их классификация, условия образования, значение.
5. Факторы патогенности: ферменты, токсины.
6. Антибиотики, источники получения.
7. Классификация антибиотиков по механизму действия и спектру.

8. Механизмы формирования антибиотикорезистентности и пути преодоления.

9. Методы определения антибактериального спектра действия антибиотиков.

10. Побочные действия при использовании антибиотиков.

Теоретический блок

Антибиотики – это вещества природного происхождения или их полусинтетические и синтетические аналоги, обладающие антимикробным, а в некоторых случаях и противоопухолевым действием (таблица 1).

Формирование антибиотикорезистентности (устойчивости) микробов. Формирование резистентности микроорганизмов к антибиотикам может быть обусловлено:

- 1) ферментативной инактивацией антибиотика;
- 2) утратой проницаемости клеточной стенки для препарата;
- 3) нарушением транспорта препарата в бактериальную клетку.

Механизмы резистентности подразделяются на первичные и приобретенные. К первичным механизмам относится отсутствие «мишени» для действия данного препарата. Например, микоплазмы резистентны к пенициллину из-за отсутствия клеточной стенки.

Таблица 1 – Механизм и спектр действия некоторых наиболее часто назначаемых антибиотиков

Происхождение	Наименование антибиотика и механизм действия	Спектр действия
	I. Механизм действия: подавление синтеза клеточной стенки	
Грибы рода Penicillium	β -лактамы антибиотики A. Пенициллины: Бензилпенициллин Оксациллин	Грамположительные бактерии

Происхождение	Наименование антибиотика и механизм действия	Спектр действия
	Ампициллин Амоксициллин	Грамположительные и грамотрицательные бактерии
	Биперациллин	Грамотрицательные бактерии
Грибы рода <i>Cephalosporium</i>	Б. Цефалоспорины: Цефалексин Цефамезин Цефазолин	Грамположительные и грамотрицательные бактерии
	Цефалоспорины, устойчивые к β -лактамазам: Цефтазидим Цефепим Клафоран	Грамположительные и грамотрицательные бактерии, в том числе анаэробные
	В. Карбопены: Имипинем, устойчивый к β -лактамазам. Побочный эффект: а) быстро развивается резистентность ко всем β -лактамным антибиотикам, обусловленная синтезом β -лактамазы; б) возможность аллергических реакций от легких форм до анафилактического шока	Аэробные грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также облигатные анаэробы
	II. Механизм действия: подавление синтеза белка на рибосомах	
Актиномицеты	А. Аминогликозиды: Стрептомицин Канамицин	Микобактерии туберкулеза, а также амебы, лейшмании, токсоплазмы

Происхождение	Наименование антибиотика и механизм действия	Спектр действия
	Гентамицин Амикацин Тобрамицин	Грамотрицательные бактерии грамотрицательные бактерии, энтеробактерии и <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptomyces erythreus</i>	Б. Макролиды: Эритромицин Олеандомицин Рокситромицин Тобромицин	Пенициллин- и тетрациклин-резистентные штаммы грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, особенно эффективны при заражении внутриклеточными паразитами, гонококками, спирохетами, хламидиями, микоплазмами, анаэробами, легионеллами
Виды <i>Streptomyces</i>	В. Тетрациклины: Тетрациклин Окситетрациклин Доксициклин Вибрамицин Побочный эффект: нарушают формирование костной ткани и зубов, дизбактериоз	Грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также микоплазмы и внутриклеточные паразиты риккетсии, легионеллы и хламидии
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Г. Левомецетин (хлорамфеникол) Побочный эффект: нарушение функции костного мозга, ЖКТ	Многие грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также грамотрицательные анаэробы
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Д. Линкозамиды: Линкомицин	Пенициллин- и тетрациклин-резистентные штаммы грамположительных микроорганизмов

Происхождение	Наименование антибиотика и механизм действия	Спектр действия
Синтетический аналог	Клиндамицин Побочный эффект: появление диареи и псевдомембранозного колита	Анаэробные бактерии
	III. Механизм действия: нарушение функций цитоплазматической мембраны	
<i>Bacillus polymyxa</i>	A. Полимиксины: Препараты токсичны, в медицинской практике применяют лишь полимиксины В и Е	Грамотрицательные бактерии (эшерихии, шигеллы, протей, клебсиеллы, псевдомонады и др.)
<i>Bacillus brevis</i>	Б. Грамицидины	Грамположительные кокки и бациллы
	В. Полиеновые антибиотики: Нистатин Леворин Гризеофульвин Амфотерицин В Клотримазол Миконазол Побочный эффект: обладает нефротоксичностью	Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i> возбудители глубоких микозов, дерматофиты, большинство грибов
	V. Механизм действия: подавляющие синтез нуклеиновых кислот	
<i>Streptomyces mediterranei</i>	I A. Рифампицины: Рифамицин обочный эффект: со стороны ЖКТ и печени	Грамположительные и грамотрицательные бактерии, легионеллы, хламидии, бруцеллы и микобактерии, бактериоиды, клостридии

Происхождение	Наименование антибиотика и механизм действия	Спектр действия
Актиномицеты	Б. Актиномицины: Митамицины Блеомицины Побочный эффект: токсичность	Противоопухолевые препараты

К приобретенным механизмам относится изменение «мишени» в результате модификаций, мутаций, рекомбинаций. Часто в процессе жизнедеятельности резистентность к антибиотикам приобретает микробными клетками с R-генами резистентности от других клеток той же или близкородственной популяции. R-гены могут присутствовать в хромосоме, плаزمиде, транспозонах. R-плазида формирует полирезистентные штаммы к 5–6 лекарственным препаратам.

При мутации развивается устойчивость микроба к одному из лекарственных препаратов. Появление новых генов в генетическом аппарате бактерий приводит к нарушению проницаемости клеточных оболочек для антибиотика или изменению структур, на которые действует антибиотик. Но чаще бактериальная клетка становится резистентной, синтезируя ферменты, разрушающие антибиотик, например, β -лактамазу, действующую на β -лактамовое кольцо пенициллинов или цефалоспоринов. В результате этого до 95 % стафилококков в настоящее время вырабатывают одну из β -лактамаз – пенициллиназу и стали устойчивы к пенициллину.

Принципы преодоления лекарственной устойчивости бактерий

Микробиологический принцип. Антибиотики применяют только по показаниям, строго в соответствии с результатом антибиотикограммы. До назначения лекарственного препарата у больного необходимо взять материал для исследования, выделить чистую культуру и определить чувствительность к антибиотикам.

Чувствительность определяют методом разведения или диско-диффузионным методом с помощью бумажных дисков. Метод разведения позволяет изучить, какой антибиотик активен в отношении данного микроба, а также определить минимальную подавляющую концентрацию (МПК).

Фармакологический принцип. Основан на правильной дозировке препарата, необходимости соблюдения интервалов между применением, продолжительностью антибиотикотерапии, способа введения препарата, возможности сочетания различных лекарственных средств.

Клинический принцип. Учитывает общее состояние больного, возраст, пол, иммунный статус, наличие беременности, сопутствующие заболевания. Лечение следует начинать как можно раньше, антибиотики необходимо назначать в максимальных дозах, не давая микроорганизмам адаптироваться.

Фармацевтический принцип. Необходимо соблюдать срок годности и правила хранения препаратов.

Эпидемиологический принцип. Учитывает к каким антибиотикам микробы устойчивы в окружающей больного среде (в отделении больницы, географическом регионе), распространенность устойчивости к данному антибиотику, насколько часто встречаются антибиотикорезистентные штаммы.

Практическое задание и методика работы

1. Для определения сахаролитических ферментов петлей производят посев чистой культуры грамотрицательных микробов со скошенного агара на цветной ряд Гисса, а для определения протеолитических ферментов – в пробирку с МПБ, под пробку которой помещают индикаторные полоски для выявления индола и сероводорода.

2. *Решение задачи.* За сутки до получения результата в среды Гисса и МПБ был произведен посев чистой культуры разных видов грамотрицательных микробов. По конечным продуктам углеводного и белкового обмена определить вид микроба.

3. Для определения фермента каталазы на предметное стекло наносят каплю 3%-ного раствора перекиси водорода, а рядом для контроля – каплю физиологического раствора. В обе капли вносят бактериальную петлю с культурой. Каталаза микробов под действием перекиси водорода разлагается на кислород и воду. Выделение пузырьков кислорода свидетельствует о наличии у данного вида бактерий фермента каталазы, участвующего в биологическом окислении.

4. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом

В чашки Петри с агаром Мюллера – Хинтона засевают газонем исследуемую бактериальную культуру. На засеянную поверхность пинцетом помещают на одинаковом расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенную дозу антибиотика. Посевы инкубируют при 37 °С до следующего дня. После окончания инкубации чашки помещают вверх дном на темную матовую поверхность. Диаметр зон задержки роста с учетом диаметра самого диска измеряют с точностью до 1 мм. Для интерпретации полученных результатов используют таблицы, в которых приведены пограничные значения зон ингибиции роста, позволяющие отнести исследуемый микроорганизм к одной из трех категорий: «чувствительный», «промежуточный», «устойчивый».

Полученные результаты позволяют проводить рациональное лечение больных антибиотиками, к которым выделенная от больных бактериальная культура наиболее чувствительна.

Таблица 2 – Определение чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков (заполняется студентом)

Антибиотики Испытуемые культуры	Диаметр зоны задержки роста в мм				Заключение о степени чувствительности

Записать результаты опыта в таблицу 2, отметив диаметр зоны задержки роста бактерий вокруг дисков, сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Классификация ферментов по времени продукции механизму, месту действия.
2. Значение ферментов и их роль при определении вида бактерий.
3. Биохимическая идентификация микроорганизмов. Изучение углеводного обмена на среде Гисса, белкового обмена на МПБ.
4. Дифференциально-диагностические среды Эндо, Левина, Плоскирева, Ресселя принцип их работы.
5. Методы определения протеолитических ферментов.
6. Ферменты патогенности, их роль в патогенезе инфекционных заболеваний.
7. Способы обнаружения токсинов и ферментов патогенности микробов: гемолизина, лецитиназы, плазмокоагулазы, гиалуронидазы.
8. Классификация и роль пигментов микроорганизмов.
9. Микробный антагонизм.
10. Антибиотики, источники их получения.
11. Классификация антибиотиков по происхождению, механизму действия и спектру действия.
12. Принципы рациональной антибиотикотерапии, возможные осложнения, побочные действия.
13. Основные механизмы формирования резистентности микробов к антибиотикам.
14. Профилактика антибиотикорезистентности.
15. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
16. Дисбактериоз и принципы его профилактики.

Учебно-исследовательская работа 9

Тема: МОРФОЛОГИЯ ВИРУСОВ. ВИРУСОСКОПИЧЕСКИЕ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ. ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ – БАКТЕРИОФАГИ

План

1. Структура вируса. Принципы классификации.
2. Репродукция вирусов. Основные стадии взаимодействия вируса с клеткой хозяина.
3. Методы культивирования и индикации вирусов.
4. Вирусы бактерий – бактериофаги. Морфологические особенности, применение.

Теоретический блок

Методы культивирования и индикации вирусов

Вирусы культивируют: в организме чувствительных экспериментальных животных, в культуре клеток, в оболочках развивающегося куриного эмбриона.

Культура клеток – это клетки какой-либо ткани животных или человека, способные расти и размножаться вне организма в искусственных условиях. Для приготовления культур клеток используют различные ткани животных, человека и птиц как эмбриональные, так и зрелые. Кроме нормальных, используют и злокачественно перерожденные ткани, получаемые из опухолей.

Источником эмбриональной ткани часто служит куриный зародыш, а также эмбрионы человека, мышей, свиней, кроликов и др. Эмбриональная и опухолевая ткани отличаются лучшей выживаемостью и более активным ростом, чем ткани взрослого организма.

Культуры клеток делят на первичные, используемые в течение одной генерации, и перевиваемые, которые поддерживают путем пассажей (перевивок) длительное время. Клетки перевиваемой культуры ткани готовят из эмбриональных и злокачественных линий клеток, они способны прочно прикрепляться к стеклу флакона, образовывать монослой клеток и многократно размножаться

in vitro. Для поддержания жизнеспособности клеток применяются специальные синтетические среды, например, Среда 199 (Паркера) содержит 20 аминокислот, 17 витаминов, пурины, пиримидины, глюкозу, минеральные соли.

Типы клеточных культур

Существуют культуры переживающих тканей, в которых клетки временно сохраняют жизнеспособность, но не размножаются, и культуры растущих тканей, в которых происходит активное размножение клеток. В вирусологии используют только культуры растущих тканей, которые подразделяются на:

1. Культуры фиксированных кусочков тканей.
2. Однослойные культуры клеток:
 - а) первичные культуры клеток;
 - б) перевиваемые (стабильные) культуры клеток;
 - в) культуры диплоидных клеток (полуперевиваемые).
3. Культуры суспензированных клеток

Культуры фиксированных кусочков тканей. Кусочки измельченной ткани помещают в куриную плазму, образующую сгусток, в котором эти кусочки фиксируются. Поверх свернувшейся плазмы наливают раствор Хэнкса с антибиотиками и эмбриональный экстракт. После 1–2 дней инкубации вокруг кусочка начинают расти новые клетки на опорной сети из фибрина плазмы. В практической вирусологии эти культуры не применяются, их вытеснили более удобные однослойные культуры.

Однослойные культуры – это культуры, клетки которых растут и размножаются, будучи прикрепленными к твердому субстрату (стеклу, пластику), образуя слой толщиной в одну клетку (монослой). Метод получения однослойных культур клеток основан на обработке исходной ткани ферментами (обычно трипсином), разрушающими межклеточные связи, в результате образуется взвесь изолированных клеток. При культивировании клетки прикрепляются к стеклу сосуда (пробирки, матраца) и растут в виде сплошного монослоя, благодаря чему их удобно заражать вирусами и визуально наблюдать возникающие изменения в динамике. Однослойные культуры

характеризуются однородностью, хорошей жизнеспособностью; можно получать очень большие количества клеток.

Первичные культуры клеток. Однослойные культуры клеток называют первичными, если они способны размножаться только в первой генерации. Поэтому каждый раз для приготовления первичных культур клеток берут исходный материал – эмбриональные или зрелые ткани животных, птиц или человека.

Перевиваемые культуры клеток. Это стабильные культуры клеток, способные бесконечно долго размножаться вне организма, если их культивировать в соответствующих условиях. Исходную (маточную) культуру клеток выращивают в матрацах с питательной Средой 199, еженедельно пересевая в новые сосуды. Примеры перевиваемых культур из: клеток амниона человека FL, А-8; эмбриона мышцы ЗГЗ; опухолевых клеток человека HeLa (рак шейки матки), Нер-2 (рак гортани) и многие другие.

Существуют специальные центры – банки, где хранятся клеточные линии. Перевиваемые культуры клеток без посева на свежую среду быстро дегенерируют. При длительных пассажах их исходные свойства могут изменяться.

Полуперевиваемые культуры представляют собой диплоидные клетки человека, способные к размножению вне организма в течение 50 пассажей, культуры диплоидных клеток, полученных из различных тканей эмбриона человека. Так, например, широко применяется штамм ДКЛЧ (диплоидные клетки легких человека), штаммы MRS-5 из легочной ткани эмбриона человека. Диплоидными культурами их называют потому, что они стойко сохраняют диплоидный кариотип, присущий исходным нормальным клеткам организма – родоначальницам диплоидной линии.

Культуры диплоидных клеток применяют для выделения и культивирования вирусов. Незаменимыми они оказались в производстве культуральных вирусных вакцин.

Суспензионная культура клеток – это культура, в которой отдельные клетки или их конгломераты постоянно находятся во взвешенном состоянии в жидкой среде. Культуры клеток в суспензии удастся получить, если проводить их культивирование при

постоянном интенсивном перемешивании среды. В таких условиях клетки не могут осесть и прикрепиться к стеклу, их рост и размножение происходит во взвешенном состоянии.

Культивирование клеток в суспензии хорошо удается с перевиваемыми культурами клеток (обычно в среде Игла). Перемешивание среды достигается путем вращения пробирок в барабане с помощью магнитной мешалки. Суспензированные клетки обладают большей активностью роста, накапливаются в большом количестве, при регулярной замене среды длительное время остаются жизнеспособными.

Методы индикации и идентификации вирусов в клеточных культурах

Индикация (обнаружение вируса). При заражении вирусами клеточных культур возникают различные видимые проявления действия вируса:

1. Цитопатическое действие вируса на культуру клеток «ЦПД», это деструкция клеток, изменение их морфологии, формирование многоядерных симпластов или синцития, слияние клеток.

2. Приобретение зараженной культурой клеток способности к гемадсорбции, т. е. к адсорбции эритроцитов на поверхности клеточного слоя.

3. Образование в зараженной культуре клеток под слоем агарового покрытия характерных бляшек, являющихся негативными колониями вирусов.

4. Подавление процессов метаболизма в зараженной вирусом культуре клеток, выявляемое с помощью цветной пробы.

Серологическая **идентификация** вирусов – определение их родовой и типовой принадлежности. Идентификация выделенного вируса проводится с помощью реакции нейтрализации с диагностическими вирус-нейтрализующими сыворотками. После предварительного контакта вируса с сывороткой смесь вносят в культуру клеток и судят о наступившей нейтрализации. Вирус, нейтрализованный специфической сывороткой:

- 1) не оказывает цитопатического действия – происходит реакция нейтрализации (торможения) цитопатического действия;
- 2) не вызывает реакции гемадсорбции – наступает реакция задержки гемадсорбции;
- 3) не дает образования бляшек, происходит реакция нейтрализации образования бляшек;
- 4) не вызывает подавления метаболизма клеток, что выявляется в реакции нейтрализации по цветной пробе.

Выявление противовирусных антител. По такому же принципу ставят реакцию нейтрализации для определения неизвестных антител в сыворотке крови больного. В этом случае исследуемую сыворотку соединяют с известным вирусом, а затем вышеуказанными методами определяют, произошла ли реакция нейтрализации. Положительная реакция указывает на то, что антитела сыворотки соответствуют взятому в опыт известному вирусу.

Практическое задание и методика работы **Методика получения первичных культур** **фибробластов куриного эмбриона**

Яйца, инкубированные 7–10 дней, овоскопируют. Убедившись в жизнеспособности эмбриона, очерчивают границу воздушно-го мешка:

1. Перед вскрытием куриного эмбриона скорлупу протирают спиртом, йодом, снова спиртом и обжигают в пламени спиртовки.

2. Стерильными ножницами срезают скорлупу с тупого конца по границе воздушного мешка, после чего пинцетом удаляют подскорлупную оболочку и извлекают тело эмбриона (отделяя его от головы, которую не используют).

3. Тело эмбриона помещают в стерильную чашку Петри, куда добавляют 3–5 мл раствора Хенкса. Ткань измельчают ножницами до кусочков не более 1–2 мм.

4. Измельченные кусочки ткани переносят пастеровской пипеткой с широким капилляром в пробирку.

5. Для отмывания ткани от крови в пробирку наливают 2 мл раствора Хенкса, затем дают жидкости отстояться и пипеткой удаляют её. Так повторяют 2–3 раза.

6. К отмытым кусочкам ткани добавляют 1–2 мл раствора трипсина и пипетируют путем насасывания пастеровской пипеткой и энергичного выдувания на стенку пробирки в течение 5 минут. Дают отстояться жидкости и переносят её в центрифужную пробирку, куда наливают 3 мл гидролизата лактальбумина. К оставшимся кусочкам вновь добавляют 1 мл раствора трипсина и трипсинизацию повторяют.

7. Центрифугируют 10 мин при скорости 1000 оборотов в минуту.

8. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок ресуспензируют в небольшом количестве (5 мл) лактальбумина.

9. Фильтруют через марлю.

10. Производят подсчет клеток в камере Горяева и вычисляют количество клеток по формуле

$$\text{количество клеток в 1 мл} = \frac{a \times 4000}{3600} \times 1000,$$

где a – количество клеток в камере;

3600 – число квадратов в камере;

$1/4000 \text{ мм}^3$ – объем одного квадрата.

11. Суспензию клеток разводят раствором лактальбумина с сывороткой до содержания 4000000 клеток в 1 мл и разливают по 1 мл в пробирки.

12. Пробирки помещают в термостат при 37 °С (под углом 5 градусов) (почти в горизонтальном положении). Через 2–3 суток при просмотре под микроскопом с малым увеличением виден сплошной рост размножившихся фибробластов. Пробирки с хорошим ростом ткани отбирают для заражения вирусом.

Культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах

Куриный эмбрион – удобная модель для культивирования вирусов. Наличие плотной скорлупы защищает эмбрион от попадания микроорганизмов из внешней среды и таким образом вирусы размножаются в стерильных условиях.

Под скорлупной оболочкой находится хорионаллантоисная оболочка, богатая кровеносными сосудами, которая служит эмбриону органом дыхания. Изнутри к ней прилегает аллантоисная полость, которая является органом выделения и защищает зародыш от высыхания и травм. Аллантоисная полость окружает зародыш, находящийся в полости амниона, которая наполнена околоплодной жидкостью. Через желточный канатик зародыш соединен с желточным мешком – основным источником питательных веществ. На поздних этапах развития эмбрион получает питательные вещества и из белочного мешка, расположенного в остром конце яйца.

С целью культивирования вирусов заразить куриный эмбрион патологическим материалом на хорионаллантоисную оболочку, в аллантоисную и амниотическую полости.

Яйцо устанавливают в вертикальном положении тупым концом вверх, скорлупу обрабатывают спиртом, йодом и повторно спиртом с обжиганием. Вскрытие скорлупы производится следующим образом: над воздушным мешком прокалывают препаративной иглой небольшое отверстие, через которое в полость воздушного мешка вводят браншу ножниц и срезают скорлупу над ним. Затем анатомическим глазным пинцетом осторожно снимают внутренний листок подскорлупной оболочки. Под ней находится хорионаллантоисная оболочка, на которую пастеровской пипеткой или шприцем наносят исследуемый материал в количестве 0,2–0,5 мл, отверстие скорлупы закрывают стерильным стеклянным колпачком, который закрепляют на яйце расплавленным парафином (в случае отсутствия колпачка отверстие можно закрыть стерильным лейкопластырем). Зараженное яйцо помещают в термостат на 48 часов.

При заражении в аллантоисную полость используют 10–11-дневные эмбрионы. Исследуемый материал в объеме 0,1–0,2 мл вводят в небольшое отверстие в скорлупе над воздушным мешком отвесно вниз на глубину 2 см. Отверстие заливают парафином или клеивают лейкопластырем. Гораздо реже производят заражение в амниотическую полость (эмбрионы 11–12-дневного возраста). При попадании иглы в амниотическую полость наблюда-

ется смещение зародыша. При заражении в амниотическую полость вирусы размножаются не только в ней, но и в тканях зародыша (например, вирус гриппа и др.).

Для культивирования риккетсий, хламидий заразить куриный эмбрион риккетсиосодержащим материалом в желточный мешок.

Исследуемый материал вводят 5–8-дневным эмбрионам в отверстие со стороны тупого конца яйца на глубину 2–3 см.

Теоретический блок

Бактериофаги – вирусы бактерий, способные в них репродуцироваться (размножаться), при этом бактериальные клетки лизируются (растворяются). Такой тип взаимодействия с клеткой характерен для вирулентных фагов, участвующих в продуктивной инфекции. Существуют также умеренные фаги, способные переходить в интегративное состояние профага (интегративная инфекция). При этом бактерии остаются жизнеспособными и становятся лизогенными.

Для индикации и выделения бактериофага из какого-либо объекта (испражнений, гноя, сточных вод, почвы и др.) исследуемый материал вносят в пробирку с МПБ, добавив бактерии, к которым хотят получить бактериофаг, и инкубируют в термостате при 37 °С. Затем содержимое пробирки освобождают от бактерий центрифугированием или фильтрованием через бактериальный фильтр. Фильтрат засевают на чашки с бактериальными культурами и через сутки инкубации в термостате наблюдают появление округлых стерильных пятен – негативных колоний фага, что свидетельствует о наличии фага в исследуемом объекте. При этом вирулентные фаги дают полностью прозрачные негативные колонии. Умеренные фаги – негативные колонии с прозрачной периферией и мутным центром, где наблюдается рост лизогенных бактерий.

Для выделения бактериофага материал из стерильного пятна с помощью петли переносят в пробирку с МПБ, добавляют чувствительную бактериальную культуру, инкубируют и получают прозрачный фильтрат, который центрифугируют для полного освобо-

ждения от бактерий. Так получают различные диагностические или лечебно-профилактические препараты бактериофагов. В настоящее время выпускаются препараты дизентерийного, сальмонеллезных, коли-протейного, стафилококкового бактериофагов, а также наборы для фаготипирования брюшно-тифозных бактерий и др.

Применение бактериофагов для диагностики инфекционных заболеваний

Фагодиагностика применяется:

1. В качестве дополнительного метода идентификации выделенной чистой культуры возбудителя. С помощью диагностических фагов различной специфичности можно определить род, вид или фаговар исследуемой культуры.

С помощью специальных высокоспецифичных фагов удается произвести фаготипирование, т. е. дифференцировать культуры одного вида, не отличающиеся по биохимическим, антигенным и другим свойствам на основании различной чувствительности бактерий к набору фагов. Так определяют в культуре разные фаговары. Это связано с наличием у бактерий одного и того же вида специфичных рецепторов, адсорбирующих строго определенные фаги, и вызывающих в последствии их лизис.

Наборы фагов широко применяют с эпидемиологическими целями для установления источника инфекции. Например, в случае выделения от разных больных бактериальных культур, принадлежащих не только к одному виду, но и к одному фаготипу. Фаготипирование позволяет сказать, что больные заразились из одного и того же источника инфекции.

2. Для индикации возбудителя непосредственно в материале, полученном от больного, или в объектах внешней среды (вода, почва, продукты) без предварительного выделения чистой культуры. С этой целью применяют реакцию нарастания титра фага (РНФ).

Реакция нарастания титра фага основана на том, что индикаторный специфический фаг может размножаться только в присутствии чувствительных бактерий. Увеличение количества внесенного в исследуемый материал фага, выражающееся в нарастании титра

фага в несколько раз, указывает на присутствие в этом материале соответствующих фагу бактерий. Если такие бактерии отсутствуют, то при этих же условиях опыта титр индикаторного фага не изменится.

Практическое задание и методика работы

Рассмотреть на таблицах и электронограммах различные морфологические группы фагов, изучить анатомическое строение. Зарисовать схему строения фага, отметить детали анатомической структуры.

Поставить опыт. Идентификация культуры грамтрицательного микроба с помощью воздействия специфического фага.

В две пробирки с МПБ засевают Грамкультуру. В одну из пробирок добавляют петлей дизентерийный бактериофаг (опыт). Обе пробирки ставят в термостат. Через 18–20 часов в пробирке, куда бактериофаг не добавляется (контроль), наблюдается сильное помутнение бульона – произошло размножение посеянной культуры. Бульон в опытной пробирке остается прозрачным вследствие лизиса культуры под влиянием бактериофага.

Вывод: Грамкультура – *Shigella dysenteriae*.

Контрольные вопросы

1. Природа, происхождение и общая характеристика вирусов.
2. Почему вирусы считаются облигатными паразитами?
3. Какие свойства лежат в основе классификации вирусов?
4. Морфология, ультраструктура и химический состав вирусов.
5. Типы взаимодействия вирусов с клеткой.
6. Репродукция вирусов.
7. Дефектные вирусы. Персистенция, вирогения.
8. Методы культивирования вирусов.
9. Культура ткани, источники получения, виды (первичные, перевиваемые, полуперевиваемые, суспензионные, фиксированные).
10. Оболочки и полости развивающегося куриного эмбриона. Способы заражения куриного эмбриона исследуемым материалом.

11. Методы индикации вирусов в курином эмбрионе (визуальные изменения, реакция гемагглютинации).

12. Методы индикации вирусов в культуре клеток (ЦПД, метод иммуофлюоресценции, бляшкообразование, включения, реакция гемадсорбции, цветная проба).

13. Природа, ультраструктура и свойства бактериофагов.

14. Типы и основные стадии взаимодействия фага с бактериальной клеткой.

15. Вирулентные и умеренные фаги. Фаговая конверсия. Профаг, дефектный фаг. Фаги родовые, видовые, типовые.

16. Применение бактериофагов в медицинской практике.

Учебно-исследовательская работа 10

Тема: ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

План

1. Организация генетического аппарата у бактерий и вирусов. Генотип и фенотип.

2. Модификации.

3. Мутации. Диссоциации.

4. Рекомбинации у бактерий: трансформация бактерий и вирусов, трансдукция, конъюгация.

5. Идентификация нуклеиновых кислот. Полимеразно-цепная реакция (ПЦР).

6. Генная инженерия.

Теоретический блок и методика работы

Генетическими рекомбинациями называют процессы обмена генетическим материалом между двумя бактериальными клетками. Обмен может осуществляться путем трансформации, трансдукции или конъюгации. Процесс рекомбинаций идет в одну сторону – от клетки донора к клетке реципиента. Обычно передается лишь небольшой фрагмент хромосомы, поэтому образующиеся клетки-рекомбинанты сохраняют в основном генотип реципиента, включая один или несколько генов от клетки донора, т. е. являются

мерозиготами. В этом существенное отличие от полового процесса у эукариотов, при котором образуются зиготы, несущие полный хромосомный набор обоих родителей.

Трансформация – форма генетического обмена, при котором фрагмент ДНК, выделенный из бактерии-донора, проникает в бактерию-реципиента.

Постановка опыта по трансформации ДНК донора *Bac. subtilis Try*⁺ реципиенту *Bac. subtilis Try*⁻. К 1 мл 3-часовой бульонной культуры реципиента *Bac. subtilis Try*⁻ добавляют в том же количестве ДНК донора *Bac. subtilis Try*⁺. Смесь инкубируют при 37 °С в течение часа, после чего 0,1 мл высевают на сектор в чашку Петри с минимальной средой *Try*⁻.

В качестве контроля на два других сектора этой среды высевают ДНК *Try*⁺ донора и культуру *Bac. subtilis Try*⁻. Посевы ставят на сутки в термостат. Учитывают результат по росту колоний рекомбинантных штаммов.

Трансдукция – процесс переноса генетического материала от бактерии-донора бактерии-реципиенту через умеренный трансдуцирующий бактериофаг.

Постановка опыта по трансдукции от донора *E. coli lac*⁺ реципиенту *E. coli lac*⁻ через трансдуцирующий бактериофаг. К 1 мл 3-часовой бульонной культуры реципиента *E. coli lac*⁻ добавляют в том же количестве трансдуцирующий фаг, выделенный из культуры *E. coli lac*⁺ в концентрации 10^6 – 10^7 , смесь инкубируют при 37°С в течение часа, после чего 0,1 мл высевают на среду Эндо. В качестве контроля на среду Эндо высевают также культуру *E. coli lac*⁻ (реципиент без фага) и трансдуцирующий фаг *lac*⁺. Посевы ставят на сутки в термостат. Учет результатов производят по числу выросших окрашенных в малиново-красный цвет с металлическим блеском колоний.

Конъюгация – передача генетического материала от бактерии-донора бактерии-реципиенту при непосредственном контакте. Существуют различные типы бактерий-доноров в зависимости от состояния F-фактора: 1) **F⁺** – штаммы, у которых F-фактор является небольшой кольцевой двунигчатой молекулой ДНК, расположен

в цитоплазме и является плазмидой; 2) **Hfr** – штаммы с высокой способностью к рекомбинации (high frequency of recombination), у которых F-фактор интегрирован в бактериальную хромосому донора.

Постановка опыта по конъюгации от донора *E. coli* Hfr с генотипом Thr⁺ Leu⁻ реципиенту *E. coli* с генотипом Thr⁻ Leu⁺. Сущность опыта заключается в том, что от донорских клеток путем конъюгации передаются гены, контролирующие способность синтезировать Thr⁺ клеткам-реципиентам, ауксотрофным по этой аминокислоте. В качестве донора используется культура *E. coli* Hfr с генотипом Thr⁺ Leu⁻. Реципиентом служит культура *E. coli* F⁻ с генотипом Thr⁻Leu⁺. Для выделения рекомбинантов используют минимальную среду Thr⁻ Leu⁻. На этой среде могут расти только рекомбинанты. Культуры донорского и реципиентного штаммов не растут, так как первая ауксотрофна по Leu⁻, а вторая ауксотрофна по Thr⁻.

К 1 мл 3-часовой бульонной культуры реципиента добавляют 1 мл 3-часовой бульонной культуры донора. Смесь инкубируют при 37 °С в течение часа. Затем смесь в количестве 0,1 мл засевают на среду. В качестве контроля рядом на секторы высевают культуры донора и реципиента в том же объеме.

На следующие сутки регистрируют результаты опыта. На секторах с посевами контролей роста нет. На секторе с посевом рекомбинанта есть рост.

Метод ПЦР основан на принципе естественной репликации ДНК: расплетение двойной спирали ДНК, расхождение нитей ДНК и комплементарное достраивание обеих нитей с помощью термостабильной ДНК-полимеразы, полученной из бактерий *Thermophilus aquaticus* (Taq-ДНК-полимеразы).

ПЦР состоит из трех этапов: 1) – подготовка инфекционного материала, т. е. выделение ДНК или РНК; 2) – амплификация ДНК; 3) – детекция амплифицированной ДНК.

1. Подготовка инфекционного материала. Этот этап включает разрушение микробной клетки и экстракцию нуклеиновой кислоты.

2. Амплификация ДНК. Каждый этап амплификации ДНК, в свою очередь, состоит из трех этапов, которые повторяются несколько раз: 1) денатурация ДНК; 2) присоединение (отжиг) праймеров; 3) комплиментарное достраивание нитей ДНК (синтез фрагмента).

Денатурация ДНК достигается нагреванием исследуемого материала до 90–95 °С в течение 1 минуты. Праймеры для ПЦР создают, копируя консервативные участки ДНК возбудителей инфекционных заболеваний, которые крайне редко подвергаются генетическим изменениям. В качестве положительного контроля реакции вместо исследуемого материала используют стандартный препарат ДНК исследуемого возбудителя, а в отрицательном контроле вместо ДНК – демонизированную воду. Процесс амплификации заключается в повторении этапов реакции в соответствии с программой, составленной для определенного вида возбудителя. Образовавшиеся в результате первого цикла амплификации продукты синтеза служат матрицами для второго цикла амплификации. В результате 30–35 циклов амплификации накапливается около 108 копий фрагмента ДНК, что делает возможным учет результатов реакции.

3. Детекция продуктов ПЦР. Для учета результатов ПЦР проводится электрофорез продуктов реакции в геле агарозы, окрашенном бромистым этидием. Реакция считается положительной, если полоса ДНК из исследуемого материала располагается на том же уровне, что и полоса положительного контроля. Толщина полосы оценивается по четырехбалльной системе. В отрицательном контроле ПЦР продукты отсутствуют.

Контрольные вопросы

1. Основы медицинской генетики: понятия ген, фенотип, генотип, наследственность, изменчивость.

2. Виды изменчивости: ненаследственная (фенотипическая, модификационная), наследственная (рекомбинационная, мутационная).

3. Виды мутаций: спонтанные, индуцированные, генные, хромосомные, прямые, обратные.

4. Какова роль мутаций в изменении вирулентности микробов, в формировании лекарственной устойчивости?
5. Мутагенные факторы (физические, химические, биологические).
6. Диссоциация и формы её проявления.
7. Генетические рекомбинации у бактерий и механизмы передачи генетической информации: трансформация (опыт Гриффитса), трансдукция, конъюгация.
8. Плазмиды, эписомы, их основные генетические функции. Классы плазмид.
9. Генетический анализ. Картирование хромосом.
10. Транспозоны, Is-последовательности, их роль в передаче наследственной информации.
11. Генетика вирусов. Внутривидовой и межвидовой обмен генетическим материалом.
12. Роль мутаций и генетических рекомбинаций в селекции и эволюции микробов.
13. Генная инженерия, сущность, области применения, достижения в микробиологии.
14. Генетические методы диагностики инфекционных заболеваний: иммуноблотинг, ПЦР методики постановки.

Учебно-теоретическая работа 11

Коллоквиум 1 по разделу:

ФИЗИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА МИКРОБОВ

(Собеседование, тестовый контроль, ситуационные задачи)

1. Действие физических, химических факторов на микроорганизмы. Понятие о стерилизации, дезинфекции, дезинсекции, дератизации, антисептике и асептике.
2. Методы стерилизации (физические, химические, механические, биологические) аппарата, режим, контроль.
3. Экология микробов. Роль микробов в круговороте веществ в природе.
4. Микрофлора воздуха, воды, почвы, тела человека.

5. Значение нормальной микрофлоры для организма человека и созревания иммунной системы.

6. Дисбактериоз, факторы способствующие его развитию.

7. Принципы коррекции микрофлоры при дисбактериозах, препараты-эубиотики, применяемые для восстановления нормальной микрофлоры человека при дисбактериозе.

8. Питание бактерий. Механизмы, классификация бактерий по типам питания.

9. Питательные среды, классификация. Требования к питательным средам.

10. Принцип приготовления основных питательных сред.

11. Техника посева и пересева микробов.

12. Термостат, терморегуляторы. Принцип работы.

13. Температурные границы роста: термофилы, психрофилы и мезофилы.

14. Рост и размножение бактерий. Фазы размножения бактерий на жидких питательных средах. Колонии микробов, их характеристика, счет колоний.

15. Дыхание микробов. Классификация микробов по типам дыхания: аэробы, облигатные и факультативные анаэробы, микроаэрофилы, аэротолеранты.

16. Методы выделения чистых культур аэробов: механические, физические, химические, биологические.

17. Методы создания анаэробных условий.

18. Ферменты бактерий. Их классификация. Ферментативная активность микробов и её использование для идентификации бактерий.

19. Углеводный обмен у бактерий, его значение. Среда Гисса, Эндо, Левина, Плоскирева, Ресселя и др. для дифференциации бактерий.

20. Белковый обмен у бактерий, его изучение и значение для дифференциации бактерий.

21. Пигменты бактерий, их роль, условия образования, классификация.

22. Вирусы. Классификация, структура размер.

23. Признаки уникальности вирусов, их отличие от бактерий
24. Типы взаимодействия вируса с клеткой: инфекция, интеграция, виrogenия.
25. Типы тканевых культур клеток, классификация. Способы приготовления и выращивания культуры клеток.
26. Культивирование вирусов и методы их индикации на курином эмбрионе и в культуре клеток.
27. Бактериофаги: вирулентные, умеренные, профаги, дефектные. Строение, взаимодействие с бактериальной клеткой, свойства, применение, получение.
28. Генетика бактерий. Генотип и фенотип. Виды изменчивости: фенотипическая и генотипическая. Модификации, диссоциации, мутации. Классификация мутаций по происхождению, по механизму.
29. Мутагены физические, химические, биологические.
30. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация.
31. Плазмиды. Их свойства и функции.
32. Подвижные генетические элементы: транспозоны, Is-последовательности и их роль.
33. Понятие о геной инженерии и биотехнологии.
34. Молекулярно-генетический метод исследования – ПЦР. Принцип постановки, практическое значение.
35. Микробный антагонизм.
36. Антибиотики, источники их получения.
37. Классификация антибиотиков по происхождению, механизму и спектру действия.
38. Принципы рациональной антибиотикотерапии, возможные осложнения, побочные действия.
39. Основные механизмы формирования резистентности микробов к антибиотикам и меры профилактики.
40. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Билет 1

1. Какие источники углерода, азота используют микроорганизмы и на какие группы их подразделяют по типу усвоения углерода? Механизмы транспорта питательных веществ из внешней среды в бактериальную клетку.

2. Вирусы. Морфология, классификация, стадии репродукции.

3. Трансдукция. Вирулентные и умеренные фаги, профаг, фаговая конверсия.

4. Условия стерилизации в автоклаве (что стерилизуют, температура, время). Контроль стерилизации.

5. Назовите β -лактамы антибиотики, механизм действия на бактерии. С чем связана устойчивость к ним многих бактерий? Какие меры позволяют бороться с антибиотикоустойчивостью бактерий к β -лактамам антибиотикам. Перечислите антибиотики, устойчивые к β -лактамазам.

Тесты

1. Микроорганизмы, не способные самостоятельно синтезировать какие-либо необходимые им органические соединения (углеводы, аминокислоты) называются:

1. Прототрофы.
2. Гетеротрофы.
3. Ауксотрофы.
4. Аутоотрофы.
5. Хемотрофы.

2. Бактериологический метод исследования включает:

1. Приготовление мазка из исследуемого материала и окраска его по Граму.

2. Рассев исследуемого материала с целью получения изолированных колоний.

3. Способы выявления у бактерий капсулы, подвижности, спор.

4. Методы выделения чистой культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов.

5. Дифференциация и идентификация чистой культуры выделенных бактерий.

3. Фазы роста бактерий на жидкой питательной среде:

1. Отмирания.
2. Максимальная стационарная.
3. Запаздывания.
4. Отрицательного ускорения.
5. Логарифмического роста.

4. Модификации:

1. Сопровождаются изменениями первичной структуры ДНК.
2. Позволяют микробным популяциям быстро адаптироваться к окружающей среде.

3. Проявляются в изменении морфологических, биохимических, культуральных свойств микроорганизма.

4. Характеризуются невозможностью реверсии к первоначальному фенотипу.

5. Являются генотипическими изменениями одного или нескольких признаков микроорганизма.

5. Для ферментов бактерий характерно:

1. Белковая природа.
2. Высокомолекулярная структура.
3. Неспецифичность действия.
4. Важнейшая роль в обмене веществ.
5. Специфичность действия.

Билет 2

1. Основные требования, предъявляемые к питательным средам. Классификация питательных сред по консистенции, составу, назначению. Простые питательные среды. Приготовление, применение. Потребность микроорганизмов в факторах роста, их химическая природа. Понятие об ауксотрофах и прототрофах.

2. Первичные культуры клеток, почему их так называют, из каких тканей получают? Техника приготовления культуры клеток. Индикация вируса по его цитопатическому действию (ЦПД). Каковы видимые проявления ЦПД вируса в культуре клеток? Индикация вируса по нейтрализации ЦПД

3. Мутации у бактерий. Характеристика различных типов мутаций: точечные, протяженные, прямые, обратные. Мутагены химические, физические, механизм их действия.

4. Стерилизация сухим жаром. Печь Пастера (сухожаровая камера). Что стерилизуют и режим стерилизации (температура, время).

5. Микробный антагонизм. Причины, приводящие к антагонизму.

Тесты

1. Фазы роста бактерий на жидкой питательной среде:

1. Отмирания.
2. Максимальная стационарная.
3. Запоздывания.
4. Отрицательного ускорения.
5. Логарифмического роста.

2. Плазмиды способны:

1. Синтезировать цитоплазматическую мембрану бактериальной клетки.
2. Интегрировать в хромосому и реплицироваться вместе с ней.
3. Автономно реплицироваться и существовать в цитоплазме клетки.
4. Обеспечивать бактериям временные преимущества.
5. Обуславливать пластический и энергетический метаболизм клетки.

3. Ферменты микроорганизмов:

1. Способствуют проявлению патогенности бактерий.
2. Позволяют идентифицировать виды и варианты бактерий.
3. Расщепляют белки, жиры, углеводы до более простых соединений.
4. Осуществляют окислительно-восстановительный процесс в клетке.
5. Передают наследственную информацию.

4. В опыте конъюгации используют:

1. Культуру доноров с Hfr.
2. Умеренный фаг.
3. Культуру реципиента.

4. Растворенную ДНК.
5. Вирулентный фаг.

5. Ферментный состав любого микроорганизма:

1. Определяется геномом.
2. Отвечает за наследственность.
3. Является стабильным признаком.
4. Используется для дифференциации бактерий.
5. Способствует проявлению патогенных свойств.

Билет 3

1. Этапы выделения чистой культуры. Какие свойства бактерий позволяют их дифференцировать, а какие идентифицировать?

2. Формы существования вирусов. В чем заключается паразитизм на генетическом уровне, для каких микроорганизмов он характерен.

Первичные культуры клеток, почему их так называют, из каких тканей получают? Схема приготовления культуры клеток.

3. Строение развивающегося куриного эмбриона (КЭ). Подготовка к заражению КЭ. Способы заражения КЭ.

4. Генетические рекомбинации. Трансформация. Опыт Гриффитса.

5. Микробный антагонизм, причины, приводящие к антагонизму. Дать определение, что такое антибиотики. Их подразделение в зависимости от источников получения, примеры.

Тесты

1. К дифференциально-диагностическим относятся среды:

1. Левенштейна – Йенсена.
2. Эндо.
3. Ресселя.
4. Гисса.
5. Китта – Тароцци.

2. Питательные вещества проникают в бактериальную клетку в результате:

1. Простой диффузии.
2. Облегченной диффузии.

3. Процессов окисления.
4. Активного транспорта.
5. Транслокации групп.

3. Конъюгация состоит из следующих этапов:

1. Соединение клеток донора F^+ или Hfr с клетками реципиента.
2. Полная или частичная утрата нуклеотидов ДНК.
3. Перемещение фрагментов ДНК в хромосоме.
4. Встраивание фрагментов ДНК бактерий в геном фага.
5. Перенос бактериальной хромосомы (ДНК) из клетки донора

в клетку реципиента.

4. Физиологические и биохимические особенности микроорганизмов имеют большое значение для:

1. Систематики бактерий.
2. Дифференциации и идентификации.
3. Решения экологических проблем.
4. Изучения механизмов патогенного действия.
5. Производства вакцин, антибиотиков.

5. По отношению к температурному фактору бактерии делятся на:

1. Сапрофиты.
2. Психрофилы.
3. Галофилы.
4. Мезофилы.
5. Термофилы.

Билет 4

1. Ферменты бактерий. Классификация. Значение для микробной клетки, какие из них используются для идентификации.

2. Вирулентные фаги, стадии их взаимодействия с чувствительными бактериальными клетками (продуктивный тип). Умеренные фаги, особенности взаимодействия их с чувствительными бактериями. Профаг, явление лизогении.

3. Фенотипическая и генотипическая изменчивость микробов, их сущность. Организация генетического аппарата прокариот, бактериальная хромосома и внехромосомные генетические элементы.

4. Химический метод дезинфекции. Перечислите наиболее распространенные химические дезинфицирующие средства

5. Антибиотики, источники их получения. Перечислите антибиотики, полученные из грибов, механизм их антибактериального действия. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Тесты

1. Возникновению антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов способствует применение антибиотиков:

1. Без определения их чувствительности.
2. Без достаточных показаний.
3. Одних и тех же для лечения людей, животных и птиц.
4. Высокими дозами и в комбинации с химиопрепаратами.
5. В качестве консервантов пищевых продуктов.

2. Наследственная информация в бактериальной клетке локализуется в:

1. Цитоплазматической мембране.
2. Митохондриях.
3. Мезосомах.
4. Нуклеоиде.
5. Плазмидах.

3. Мутации характеризуются:

1. Фенотипическими изменениями одного или нескольких признаков микроорганизма.
2. Наследственно закрепленной утратой или изменением признака микроорганизма.
3. Отсутствием изменений в первичной структуре ДНК.
4. Частичной утратой нуклеотидов в ДНК.
5. Изменениями последовательности нуклеотидов в ДНК.

4. Трансдукция состоит из следующих этапов:

1. Встраивание фрагментов ДНК бактерии в геном фага.
2. Перенос фрагментов ДНК через конъюгативный мостик.
3. Расщепление бактериальной хромосомы под действием фага.
4. Инвазия фага в новую бактериальную клетку.

5. Перераспределение генетического материала с образованием рекомбинанта.

5. Микроорганизмы с наиболее выраженными антагонистическими свойствами:

1. Микобактерии.
2. Актиномицеты.
3. Грибы.
4. Микоплазмы.
5. Бактерии.

Билет 5

1. Методы стерилизации: физические, химические, механические, биологические. Контроль качества стерилизации. Антисептика. Асептика.

2. Методы культивирования и индикации вирусов. Типы тканевых культур. Приготовление культуры клеток.

3. Внехромосомные источники генетической информации бактерий: плазмиды, эписомы, транспозоны, Is-последовательности.

4. Колония, ее характеристика, особенности, имеющие значение для идентификации бактерий. С какой целью и как производится подсчет колоний?

5. Механизмы формирования антибиотикорезистентных культур. Что способствует формированию антибиотикорезистентности у бактерий. Мероприятия, способствующие предупреждению развития антибиотикорезистентности у бактерий.

Тесты

1. Трансформация представляет собой:

1. Передачу генетического материала от одних бактерий другим с помощью фагов.

2. Переход ДНК из клетки в клетку при контакте.

3. Изменения в структуре ДНК реципиента в результате включения в него фрагментов ДНК донора.

4. Адаптивную реакцию микробных клеток в ответ на изменения условий окружающей среды.

5. Непосредственную передачу фрагмента ДНК- донора реципиентной клетке.

2. Трансформация осуществляется с помощью:

1. Умеренного фага.
2. Фактора фертильности.
3. Плазмиды.
4. ДНК культуры донора.
5. Транспозона.

3. Бактериологический метод исследования включает:

1. Приготовление мазка из исследуемого материала и окраска его по Граму.
2. Рассев исследуемого материала с целью получения изолированных колоний.
3. Выявление у бактерий капсулы, подвижности, спор.
4. Выделение чистой культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов.
5. Дифференциацию и идентификацию чистой культуры выделенных бактерий.

4. Генная инженерия:

1. Используется для получения новых препаратов, не существующих в природе.
2. Заменяет методы получения лечебных и диагностических сывороток.
3. Не имеет решающего значения в развитии биотехнологии.
4. Позволяет получить живые вакцины, несущие антигены нескольких микроорганизмов.
5. Играет важную роль в экологии патогенных бактерий.

5. Медицинские препараты, полученные методами генетической инженерии:

1. Лейкоцитарный интерферон.
2. Человеческий инсулин.
3. Гормон роста.
4. Моноклональные антитела.
5. Диагностикумы.

Билет 6

1. Ферменты микробов. Классификация, значение для жизнедеятельности микроорганизмов. Какие ферменты используются для дифференциации бактерий и как это осуществляется?

2. Методы культивирования вирусов. Виды тканевых культур, метод приготовления. Индикация вирусов в культуре клеток.

3. Генетические рекомбинации у бактерий, сущность и значение. Конъюгация у бактерий, сущность. Донорские и реципиентные клетки, их отличие. F-плазида и ее свойства. Hfr-клетки, их особенности.

4. Пигменты бактерий, роль, условия образования, классификация.

5. Классификация антибиотиков по происхождению, механизму и спектру действия. Перечислите антибиотики, нарушающие функции ЦПМ.

Тесты

1. К внехромосомным факторам наследственности относятся:

1. Рибосомы.
2. Транспозоны.
3. Мезосомы.
4. Плазмиды.
5. Is-последовательности.

2. Плазмиды:

1. Генетические элементы, жизненно необходимые бактериальной клетке.
2. Генетические элементы, придающие бактериям определенные селективные преимущества.
3. Замкнутые кольца двуничейной ДНК.
4. Одноничейная линейная РНК.
5. Внехромосомные генетические структуры бактерии.

3. Идентификацию бактерий производят по расщеплению:

1. Углеводов.
2. Липидов.
3. Солей.

4. Желатина.
5. Пептона.

4. Особенности колоний, имеющие значение для идентификации бактерий:

1. Величина.
2. Форма.
3. Край.
4. Цвет.
5. Температура.

5. Значение пигментов в жизнедеятельности микробов:

1. Защищают от ультрафиолетовых лучей.
2. Повышают ферментативную активность бактерий.
3. Участвуют в дыхании.
4. Обладают антибиотическим действием.
5. Не учитываются при идентификации бактерий.

Билет 7

1. Дифференциально-диагностические среды, принцип работы среды, с какой целью применяют, примеры.
2. Вирусы, морфология, классификация, репродукция.
3. Генетические рекомбинации. Трансформация. Опыт Гриффитса.
4. Этапы выделения чистой культуры. Какие свойства бактерий позволяют их дифференцировать, а какие идентифицировать?
5. Осложнения при антибиотикотерапии. Принципы рациональной антибиотикотерапии.

Тесты

1. Чистая культура бактерий используется:

1. Для диагностики инфекционных заболеваний.
2. В производстве вакцин.
3. Для приготовления диагностических препаратов.
4. В производстве антибиотиков.
5. Ни в одном из указанных.

2. Чистая культура микробов – это:

1. Потомство одной микробной клетки, выращенное на питательной среде.
2. Микроорганизмы одного и того же вида, выделенные из различных источников.
3. Микроорганизмы одного и того же вида, выделенные в разное время года.
4. Культуры бактерий, полученные путем пересева изолированных колоний.
5. Культуры бактерий, полученные путем пересева разных колоний.

3. Дифференциация бактерий на среде Эндо основана на:

1. Расщеплении лактозы.
2. Разложении пептона.
3. Образовании кислот.
4. Восстановлении основного фуксина.
5. Расщеплении глюкозы.

4. Плазмиды:

1. Генетические элементы, жизненно необходимые бактериальной клетке.
2. Генетические элементы, придающие бактериям определенные селективные преимущества.
3. Замкнутые кольца двуничейной ДНК.
4. Одноничейная линейная РНК.
5. Внехромосомные генетические структуры бактерии.

5. Основные свойства плазмид:

1. Обязательный компонент бактериальной клетки.
2. Продуцируют биологически активные вещества.
3. Несут определенную генетическую информацию.
4. Способны встраиваться в геном бактериальной клетки.
5. Являются факторами патогенности.

Билет 8

1. Дыхание микробов. Аэробный и анаэробный типы биологического окисления. Перечислите облигатных анаэробов. Методы создания анаэробных условий.

2. Формы существования вирусов. В чем заключается паразитизм на генетическом уровне, для каких микроорганизмов он характерен? Первичные культуры клеток, почему их так называют, из каких тканей получают? Схема приготовления культуры клеток.

3. Особенности культивирования облигатных внутриклеточных бактерий (риккетсий, хламидий). Как проводится индикация роста хламидий и риккетсий.

4. Питание бактерий. Классификация бактерий по типам питания. Механизмы поступления питательных веществ в бактериальную клетку.

5. Перечислите антибиотики, влияющие на синтез клеточной стенки. На какие группы делятся антибиотики по антимикробному спектру действия.

Тесты

1. Is-последовательности:

1. Специфические мигрирующие фрагменты ДНК.
2. Гены, необходимые для интеграции с негомологичными участками репликонов.
3. Гены, способные реплицироваться самостоятельно и существовать автономно.
4. Содержат информацию, необходимую только для перемещения в различные участки ДНК.
5. Кодировать взаимодействие транспозонов, плазмид, умеренных фагов между собой и с хромосомой бактериальной клетки.

2. Транспозоны:

1. Сложные генетические структуры, способные к самостоятельной репликации.
2. Обособленные фрагменты ДНК, не способные к репликации.
3. Выполняют регуляторные и кодирующие функции.
4. Способны к перемещению с одного репликона (хромосомная ДНК) на другой (плазида) и наоборот.
5. Не участвуют в формировании антибиотикорезистентности бактерий.

3. Плазмиды:

1. Генетические элементы, жизненно необходимые бактериальной клетке.
2. Генетические элементы, придающие бактериям определенные селективные преимущества.
3. Замкнутые кольца двунигчатой ДНК.
4. Однонигчатая линейная РНК.
5. Внехромосомные генетические структуры бактерии.

4. Принципы рациональной антибиотикотерапии:

1. Назначать строго по показаниям, после определения чувствительности возбудителя болезни к антибиотикам.
2. Правильная дозировка и возможность сочетания различных лекарственных средств.
3. Лечение назначать в минимальных дозах, давая микроорганизмам адаптироваться.
4. Учитывать антибиотикорезистентность бактерий в среде, окружающей больного (в отделении больницы, географическом регионе).
5. Прекращать введение антибиотиков немедленно после снижения температуры и улучшения состояния больного (игнорировать продолжительность антибиотикотерапии).

5. Облигатные анаэробы:

1. Растут и размножаются как в присутствии кислорода, так и без него.
2. Нуждаются в свободном кислороде.
3. Получают энергию при помощи брожения
4. Нет патогенных представителей.
5. Используют бескислородный тип дыхания.

Билет 9

1. Типы дыхания бактерий. Назовите патогенные микробы облигатные анаэробы. Способы создания бескислородных условий. Аппаратура для культивирования облигатных анаэробов.
2. Вирусы. Морфология, ультраструктура, классификация, стадии репродукции, типы взаимодействия с клеткой хозяина

продуктивный, интегративный. Перевиваемые культуры клеток, примеры таких культур, их характеристика.

3. Генетические рекомбинации у бактерий, сущность и значение. Трансдукция. Умеренные и вирулентные фаги. Профаг. Фаговая конверсия.

4. Белковый обмен, его значение, методы изучения.

5. Какие микроорганизмы являются продуцентами антибиотиков. Приведите примеры антибиотиков, вырабатываемых такими микроорганизмами. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Тесты

1. Антибиотики:

1. Высокоактивные метаболические продукты микроорганизмов.

2. Избирательно подавляют рост различных бактерий и некоторых опухолей.

3. По механизму действия не отличаются друг от друга.

4. Оказывают на микроорганизмы бактериостатическое или бактерицидное действие.

5. Антимикробный спектр действия у всех одинаковый.

2. Антибиотики классифицируют по:

1. Происхождению.

2. Химическому составу.

3. Механизму ингибирующего действия.

4. Растворимости в спирте.

5. Способу получения.

3. Стеклоянную лабораторную посуду стерилизуют:

1. Тиндализацией.

2. Текучим паром.

3. Автоклавированием.

4. Пастеризацией.

5. Сухим жаром.

4. Ионизирующая радиация, ультразвук используются для стерилизации:

1. Помещения.

2. Пищевых продуктов.
3. Питательных сред.
4. Вакцин и сывороток.
5. Лабораторной посуды.

5. Антагонизм микроорганизмов обуславливается:

1. Разной скоростью роста микроорганизмов, нуждающихся в одних и тех же питательных веществах.
2. Образованием микроорганизмами кислот, спиртов и иных продуктов обмена, изменяющих условия существования других микроорганизмов в среде.
3. Выделением микроорганизмами ростовых веществ (аминокислот, витаминов и др.), стимулирующих рост других микроорганизмов.
4. Выделением в окружающую среду антибиотических веществ, бактериоцинов.
5. Питанием одного микроорганизма за счет другого.

Билет 10

1. Что такое колония? По каким признакам дифференцируют колонии? Этапы выделения чистой культуры микроорганизмов. Цель и методы выделения чистой культуры микробов.
2. Морфология, ультраструктура и химический состав вирусов. Отличие вирусов от бактерий. Перевиваемые культуры клеток, примеры таких культур, их характеристика.
3. Плазмиды. Химическая природа и свойства Col-, Ent-, Ну-плазмид. Транспозоны, Is-последовательности; их генетические функции.
4. Дробные методы стерилизации, условия применения и режим.
5. Основные механизмы формирования резистентности микробов к антибиотикам.

Тесты

1. Вирогения:

1. Обязательный этап репродукции вирусов.
2. Встраивание нуклеиновой кислоты вируса в хромосому клетки.

3. Характерна только для ДНК-вирусов.
4. Механизм персистенции вирусов.
5. Причина возникновения опухолей, аутоиммунных заболеваний.

2. Характерные свойства вирусов:

1. Клеточная структура.
2. Один тип нуклеиновой кислоты.
3. Дизъюнктивный способ размножения.
4. Абсолютный внутриклеточный паразитизм.
5. Возможность интеграции в клеточный геном.

3. Размножение бактериофагов происходит:

1. В куриных эмбрионах.
2. На искусственных питательных средах.
3. В клетках бактерий определенного вида.
4. В организме животных.
5. В клетках любых бактериальных культур.

4. Бактериофаги характеризуются:

1. Клеточной структурой.
2. Содержанием нуклеиновых кислот ДНК и РНК.
3. Содержанием одной нуклеиновой кислоты ДНК или РНК.
4. Внутриклеточным паразитизмом.
5. Широкой распространенностью в природе.

5. К элективным средам относятся:

1. Кровяной агар.
2. Щелочной агар.
3. Желточно-солевой агар.
4. Желчный бульон
5. Свернутая сыворотка.

Билет 11

1. Обмен веществ у микробов: углеводный, белковый. Значение и способы изучения.
2. Бактериофаг. Морфология, применение.
3. Генная инженерия, цель и области применения. Этапы получения организмов с новыми свойствами с помощью методов генной инженерии.

4. Требования, предъявляемые к питательным средам. Классификация питательных сред по составу и назначению.

5. Перечислите методы холодной стерилизации. Какие фильтры используют для стерилизации фильтрованием? Методы механической и физической дезинфекции.

Тесты

1. Чистая культура микробов – это:

1. Рост бактерий одного вида на питательной среде.
2. Микроорганизмы одного и того же вида, выделенные из различных источников.
3. Микроорганизмы одного и того же вида, выделенные в разное время года.
4. Культуры бактерий, полученные путем посева изолированных колоний.
5. Культуры бактерий, полученные путем посева разных колоний.

2. Модификации:

1. Сопровождаются изменениями первичной структуры ДНК.
2. Позволяют микробным популяциям быстро адаптироваться к окружающей среде.
3. Проявляются в изменении морфологических, биохимических, культуральных свойств микроорганизма.
4. Характеризуются невозможностью реверсии к первоначальному фенотипу.
5. Являются генотипическими изменениями одного или нескольких признаков микроорганизма.

3. К дифференциально-диагностическим относятся среды:

1. Левенштейна – Йенсена.
2. Эндо.
3. Ресселя.
4. Гисса.
5. Китта – Тароцци.

4. Стерилизация – это:

1. Уничтожение патогенных для человека микроорганизмов.

2. Обеззараживание объектов внешней среды.
3. Обеспложивание материала.
4. Полное уничтожение микроорганизмов в различных материалах.
5. Предупреждение попадания микробов в ткани человеческого организма.

5. Фаги применяют для:

1. Типирования бактерий.
2. Диагностики.
3. Профилактики.
4. Терапии.
5. Индикации бактерий.

Билет 12

1. Модификации. S-, R-диссоциации у бактерий, как проявление мутационной изменчивости, причинный фактор и значение.

2. Дыхание микробов. Назовите ферменты биологического окисления и как их выявляют. Методы выращивания облигатных анаэробов. Перечислите кластридиальных и некластридиальных облигатных анаэробов.

3. Особенности культивирования облигатных внутриклеточных бактерий (риккетсий, хламидий). Как проводится индикация роста хламидий и риккетсий?

4. Вирусы, морфология, ультраструктура, классификация, стадии репродукции. Что значит продуктивный и интегративный тип репродукции; вирогения; персистенция? Признаки, отличающие вирусы от бактерий.

5. Механизмы формирования антибиотикорезистентных культур. Факторы, способствующие формированию антибиотикорезистентности у бактерий. Мероприятия, способствующие предупреждению развития антибиотикорезистентности у бактерий.

Тесты

1. Бактериологический метод исследования включает:

1. Приготовление мазка из исследуемого материала и окраска его по Граму.

2. Рассев исследуемого материала с целью получения изолированных колоний.

3. Способы выявления у бактерий капсулы, подвижности, спор.

4. Методы выделения чистой культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов.

5. Дифференциацию и идентификацию чистой культуры выделенных бактерий.

2. Антибиотики:

1. Высокоактивные метаболитические продукты микроорганизмов.

2. Избирательно подавляют рост различных бактерий и некоторых опухолей.

3. Способствуют проявлению патогенных свойств бактерий.

4. Классифицируют по химическому составу, механизму и спектру действия.

5. Гидролизуют макромолекулы белков, жиров и углеводов.

3. К внехромосомным факторам наследственности относятся:

1. Рибосомы.

2. Транспозоны.

3. Мезосомы.

4. Плазмиды.

5. Is-последовательности.

4. Плазмиды:

1. Генетические элементы, жизненно необходимые бактериальной клетке.

2. Генетические элементы, придающие бактериям определенные селективные преимущества.

3. Замкнутые кольца двунитчатой ДНК.

4. Однонитчатая линейная РНК.

5. Внехромосомные генетические структуры бактерии.

5. Механизм действия антибиотиков обусловлен:

1. Нарушением функции цитоплазматической мембраны.

2. Изменением антигенной структуры бактерий.

3. Подавлением синтеза бактериальной клеточной стенки.

4. Блокированием синтеза белка на рибосомах.

5. Усилением биохимической активности бактерий.

Билет 13

1. Какие физические факторы неблагоприятно действуют на микроорганизм? Назовите методы тепловой стерилизации, обеспечивающие полное обеспложивание при однократном применении.

2. Стадии репродукции вирусов. Методы культивирования и индикации вирусов. Строение развивающегося куриного эмбриона (КЭ). Подготовка к заражению КЭ. Способы заражения КЭ.

3. Генная инженерия, цели и области применения. Этапы получения организмов с новыми свойствами с помощью методов генной инженерии.

4. Требования к питательным средам, принцип приготовления. Классификация питательных сред по назначению.

5. Противоопухолевые антибиотики. Каков механизм их действия? Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Тесты

1. Механизмы формирования резистентности микроорганизмов к антибиотикам:

1. Синтез ферментов, разрушающих антибиотики (β -лактамазы, пенициллиназы).

2. Утрата проницаемости клеточной стенки.

3. Нарушение транспорта антибиотика в бактериальную клетку.

4. Изменение структуры клеточной стенки, ЦПМ, рибосом, нуклеоида в результате модификаций, мутаций, рекомбинаций.

5. Передача бактериям генов резистентности (R-генов) плазмидами и транспозонами.

2. Факторы, способствующие формированию антибиотикорезистентности у бактерий:

1. Бесконтрольное применение антибиотиков без достаточных показаний.

2. Применение антибиотиков для профилактики инфекционных заболеваний.

3. Использование пищевых продуктов, содержащих антибиотики.

4. Предварительное, до назначения больному определение чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам.

5. Применение антибиотиков с истекшим сроком годности.

3. Мутации возникают под действием:

1. Химических веществ.
2. Видимой части светового спектра.
3. Ультрафиолетовых лучей.
4. Ферментов патогенности.
5. Рентгеновских лучей.

4. В опыте трансдукции применяется:

1. Вирулентный фаг.
2. Умеренный фаг.
3. Раствор ДНК.
4. Селективная среда.
5. Культура реципиента.

5. Для культивирования анаэробов используют:

1. Эксикатор.
2. Аппарат Коха.
3. Анаэрогат.
4. Термостат.
5. Печь Пастера.

Билет 14

1. Пигменты, их роль в жизнедеятельности бактерий, примеры пигментообразующих бактерий, значение.

2. Углеводный и белковый обмен микроорганизмов. Цель изучения и методы.

3. Этапы выделения чистой культуры. Какие свойства бактерий позволяют их дифференцировать, а какие идентифицировать?

4. Бактериофаг, структура, применение.

5. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам. Какие осложнения развиваются при антибиотикотерапии? Как предупредить развитие дисбактериоза?

Тесты

1. Требования, предъявляемые к питательным средам:

1. Стерильность.
2. Изотоничность.
3. Оптимальная рН.
4. Токсичность.
5. Наличие ферментов.

2. Изменение последовательности нуклеотидов в ДНК называется:

1. Рекомбинация.
2. Мутация.
3. Трансформация.
4. Конъюгация.
5. Транскрипция.

3. Пути преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов:

1. Химическая модификация известных антибиотиков.
2. Получение новых химиотерапевтических препаратов.
3. Изыскание ингибиторов, подавляющих бактериальные ферменты.
4. Получение препаратов, препятствующих адгезии бактерий на клетках.
5. Применение антибиотиков без показаний.

4. Возникновению антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов способствует применение антибиотиков:

1. Без определения их чувствительности.
2. Без достаточных показаний.
3. Одних и тех же для лечения людей, животных и птиц.
4. Высокими дозами и в комбинации с химиопрепаратами.
5. В качестве консервантов пищевых продуктов.

5. К дифференциально-диагностическим относятся среды:

1. Желточно-солевой агар.
2. Плоскирева.
3. Ресселя.
4. Гисса.
5. Китта – Тароцци.

Учебно-исследовательская работа 12

Тема: УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ

План

1. Инфекционный процесс, динамика развития инфекционного процесса, формы его проявления.
2. Патогенность, вирулентность микроорганизмов, методы выявления и оценки.
3. Экспериментальное заражение и иммунизация животных.
4. Бактериологическое исследование трупов экспериментальных животных.

Теоретический блок

Инфекция – это внедрение и размножение микроорганизмов в макроорганизме с последующим развитием сложного комплекса их взаимодействия – от носительства возбудителя до выраженной болезни. Комплекс физиологических и патологических процессов, наступающих в организме при внедрении в него патогенных микробов, вызывающих нарушение постоянства его внутренней среды и физиологических функций, носит название **инфекционного процесса**. Крайняя степень инфекционного процесса – болезнь.

Инфекционные болезни имеют ряд характерных особенностей, отличающих их от других болезней:

- имеют своего возбудителя;
- контагиозны, т. е. способны передаваться от больного к здоровому;
- оставляют после себя более или менее выраженную невосприимчивость или повышенную чувствительность к данному заболеванию;
- имеют четко выраженную стадийность (этапность) развития процесса.

Динамика развития инфекционного процесса

Входные ворота инфекции – ткани организма, через которые микроорганизм проникает в макроорганизм. Для одних микроорганизмов входные ворота строго определены: для вируса

кори, гриппа – верхние дыхательные пути, для энтеробактерий – желудочно-кишечный тракт, для других входные ворота могут быть различны, например, сибиреязвенные микроорганизмы способны проникать в организм человека через кожу, слизистые оболочки верхних дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта.

Возбудители инфекционных болезней распространяются в организме различными **механизмами и путями**:

а) *воздушно-капельным*, характерен для ветряной оспы, туберкулеза, коклюша, гриппа;

б) *фекально-оральным*, характерен для дизентерии, брюшного тифа, холеры;

в) *трансмиссивным*, через инфицированную кровь, который делится на: перенос через человека-носителя – гепатит В, ВИЧ-инфекция, или через насекомого-переносчика – клещевой энцефалит, риккетсиозы;

г) *контактно-бытовым*, который делится на прямой (непосредственный) контакт с больным, например, половым путем – ВИЧ-инфекция, сифилис, гонорея, и косвенный, через промежуточный бытовой объект. Это могут быть грязные руки или различные предметы – посуда, полотенце, одежда, игрушки.

По **длительности течения** различают острые инфекции (внезапно начинаются и быстро заканчиваются) и хронические инфекции. Иногда выделяют промежуточную форму – подострую. Некоторые инфекции протекают всегда остро (грипп, оспа, холера), другие – хронически (лепра, сифилис). Многие инфекции могут принимать как острое, так и хроническое течение (дизентерия, туберкулез, бруцеллез).

По **выраженности клинических симптомов** различают явные, стертые и бессимптомные (иннапарантные) формы инфекций. Явные формы инфекции подразделяются на типичные, т. е. наиболее характерные по клиническим проявлениям и атипичные с различными отклонениями от первых. К атипичным формам относят как случаи с особо тяжелым течением (например, молниеносная форма холеры со смертельным исходом), так и случаи

с легким течением или выпадением ряда характерных симптомов (абортивные формы).

Крайняя форма бессимптомной инфекции – это *носителство* патогенных микроорганизмов. При этом в организме находятся патогенные микробы, но симптомов заболевания нет. Такие люди очень опасны в эпидемиологическом отношении.

От бессимптомной инфекции надо отличать *латентную* (скрытую) инфекцию, наблюдающуюся при хронических инфекциях. Обычно латентная инфекция является фазой инфекционного процесса. Так, при сифилисе после развития первичного поражения в месте внедрения спирохет следует более или менее продолжительная стадия латентной инфекции, когда клинически симптомы отсутствуют, а дальше развивается вторичный сифилис. В некоторых случаях весь инфекционный процесс протекает в виде латентной инфекции и принимает клинически выраженную форму под влиянием провоцирующих факторов (переохлаждение, стресс), например, при герпесе. Бессимптомное нахождение микроорганизмов в макроорганизме носит название персистенция. Персистировать могут вирусы гепатита В, краснухи, кори и др. Персистенция может не давать клинических проявлений или проявиться в сложных поражениях ЦНС, появлении уродств при рождении

По *происхождению* различают экзогенные инфекции, когда патогенный микроб проникает в организм из внешней среды и эндогенные инфекции или аутоинфекции, когда источник инфекции находится внутри организма, например, стрептококк находится в миндалинах и периодически вызывает ангину. Часто причиной эндогенной инфекции являются условно-патогенные микроорганизмы, обитающие в организме человека – стрептококки, стафилококки, пневмококки, кишечная палочка, грибы кандиды, аденовирусы, герпес-вирусы и др. Прогрессирующее в таком случае заболевание возникает при ослаблении защитных свойств организма.

Наряду с инфекциями, вызванными одним возбудителем – *моноинфекции*, наблюдаются *смешанные* (ассоциированные) инфекции. От них надо отличать *вторичную* инфекцию, при которой

к основной, первоначальной, уже развившейся, присоединяется другая, вызываемая новым возбудителем. Так, грипп почти всегда сопровождается развитием вторичной инфекции, вызванной стафилококками, стрептококками и др. Вторичная инфекция также развивается при кори, дифтерии, дизентерии.

По **степени тяжести** все инфекционные заболевания делят на легкие, средней тяжести и тяжелые. Степень тяжести инфекционного заболевания зависит от вирулентности микроорганизма и от защитных механизмов макроорганизма. Инфекцию, протекающую без выраженных симптомов, называют *бессимптомной*, а при наличии характерного симптомокомплекса – *манифестной*.

Распространение бактерий, вирусов и их токсинов в организме может происходить с кровью (гематогенно), по лимфатическим путям (лимфогенно), путем контакта пораженных и непораженных тканей, по мочевыводящим путям (уриногенно), по нервным стволам (перинеурально). Нахождение микробов в крови носит название бактериемии, вирусов – вирусемии, токсинов – токсинемии.

По **локализации** возбудителя в макроорганизме различают инфекции очаговые, при которых микроорганизмы локализуются в местном очаге и не распространяются по организму (например, ангина, фурункулез) и генерализованные, при которых возбудитель распространяется лимфогенным или гематогенным путем. Наиболее тяжелой формой генерализованной инфекции является сепсис, который характеризуется размножением возбудителя в крови и, как правило, тяжелым течением заболевания. Сепсис отличается от бактериемии, при которой кровь выполняет только транспортную роль, а размножение в ней возбудителя не происходит. При сепсисе, как правило, возникают вторичные очаги гнойного воспаления в органах. Это состояние называют септикопиемией. Нередко при массовом поступлении в кровь бактерий и их токсинов развивается токсико-септический или бактериальный шок, вызывающий летальный исход.

По **механизму передачи**, инфекции могут быть *антропонозными*, которыми человек заражается лишь от человека (корь, дизентерия, дифтерия, гонорея, сифилис, гепатит В, менингококковая инфекция и др.); *зоонозными*, при которых источником возбудителя

является животное – сибирская язва, бруцеллез, туляремия, бешенство; *зооантропонозными*, при которых источником является больной или носитель человек и животное – чума, туберкулез.

После проникновения микроба в организм, заболевание возникает через определенное время. Период от проникновения микроба до появления первых клинических симптомов заболевания называют *инкубационным*. Продолжительность инкубационного периода разная – при гриппе 1–2 дня, при лепре до 10 лет, при медленных инфекциях 20 и более лет. В течение инкубационного периода происходит размножение микроба в организме, выработка токсина. Затем наступает *продромальный* период – период первых проявлений болезни: повышается температура, появляется головная боль, недомогание. Признаки эти неспецифичны, бывают при многих заболеваниях, поставить диагноз в это время трудно. В период *разгара* заболевания проявляются специфические симптомы, сопровождающиеся также выделением возбудителя из организма, вследствие чего он представляет эпидемиологическую опасность для окружающих.

Исход заболевания – в этот период может наступить:

1) *рецидив* заболевания – возврат клинических проявлений болезни без повторного заражения за счет оставшихся в организме возбудителей;

2) *суперинфекция* – инфицирование макроорганизма тем же возбудителем до выздоровления;

3) *реинфекция* – инфицирование происходит после выздоровления, т. е. она возникает в результате нового заражения тем же возбудителем, как это часто бывает при дизентерии, гонорее;

4) *бактерионосительство*;

5) полное выздоровление – *реконвалесценция*;

6) летальный исход.

Трупы инфекционных больных подлежат обязательной дезинфекции, так как представляют определенную эпидемиологическую опасность.

По *распространенности* различают *эндемические* заболевания – регистрируются строго на определенных территориях

и *эпидемические*, распространенные на разных территориях. Эндемии тесно связаны с местом обитания переносчиков, к ним относятся эндемические риккетсиозы, клещевой возвратный тиф, клещевые энцефалиты.

Существуют такие понятия, как «спорадическая заболеваемость» – единичные случаи болезни; «эпидемии» – число заболевших измеряется несколькими сотнями или тысячами, т. е. может охватывать большое количество людей на больших территориях (грипп, эпидемический вшивый сыпной тиф), и «пандемии» – заболевание охватывает несколько стран и даже континенты, например, пандемии чумы, холеры, гриппа.

Таким образом, инфекционная болезнь является примером паразитического симбиоза, когда в борьбу вступают два живых организма. На исход этой борьбы влияют 3 основных фактора: микроорганизм, макроорганизм и окружающая среда.

Микроорганизм определяет возникновение инфекционного процесса, его специфичность, а также влияет на его течение и исход.

К основным свойствам микроорганизма относится *патогенность* – это генетически закрепленная способность микроорганизмов вызывать болезнь. Одни микробы вызывают заболевание очень часто, почти у всех хозяев и при попадании в небольшом количестве (например, возбудители чумы, гриппа). Другие – лишь у некоторых индивидуумов. Это зависит от патогенности микроорганизмов. Степень патогенности измеряется *вирулентностью*, которая может быть разной даже у одного и того же штамма. Например, коринебактерии дифтерии могут быть высоковирулентными, низковирулентными и даже авирулентными. Вирулентность – это фенотипическое проявление степени патогенности. Является признаком штамма, но не вида.

Для характеристики вирулентности применяют ряд стандартных единиц:

1. *Dosis letalis minima*, **Dlm** – наименьшая доза инфекции, которая вызывает гибель примерно 80 % животных.

2. Чаще применяют, **LD₅₀** – доза, вызывающая гибель половины животных.

3. Иногда применяют характеристику по полной гибели животных. Эта единица называется *Dosis certa letalis*, **Dcl** – безусловная смертельная доза – минимальное количество микробов, вызывающее гибель всех 100 % подопытных животных.

Вирулентность микробов связана со следующими основными факторами:

Адгезия – способность микроорганизмов прикрепляться на чувствительных клетках с последующим размножением возбудителя на поверхности этих клеток – **колонизацией**. На поверхности микробных клеток расположены адгезины – химические группировки, соответствующие рецепторам клеток хозяина. У каждого вида микроорганизма имеются свои адгезины, что обеспечивает высокую специфичность взаимодействия бактериальной клетки с клеткой хозяина. С этим связана тропность т. е. избирательность связывания бактерий с теми или иными клетками организма. Например, пневмококки тропны к клеткам легочной ткани, шигеллы – к клеткам эпителия толстого кишечника и т. д. Адгезивность многих бактерий связана с фимбриями, с белками или липотейхоевыми кислотами клеточной стенки.

Агрессивность – способность подавлять защитные силы организма, зависит от:

а) различных структур бактериальной клетки – капсулы, клеточной стенки, липополисахаридов грамотрицательных бактерий, которые подавляют миграцию лейкоцитов, препятствуют фагоцитозу;

б) ферментов, разрушающих иммуноглобулины.

Инвазивность – способность проникать в подлежащие ткани зависит от ферментов патогенности: *гиалуронидаза*, являясь «фактором распространения», гидролизует гиалуроновую кислоту – основной компонент соединительной ткани, тем самым повышая проницаемость слизистых оболочек и соединительной ткани; *коллагеназа* – протеолитический фермент, разрушает коллаген, способствует распространению микробов; *плазмокоагулаза* – коагулирует плазму, чем затрудняет фагоцитоз и лизис микробов; *лецитиназа* растворяет лецитин мембран мышечных волокон, эритроцитов; *фибринолизин (стрептокиназа)* активирует протеолити-

ческий фермент плазмы и растворяет фибрин, ограничивающий местный воспалительный очаг, что приводит к распространению стафилококков, стрептококков в тканях и генерализации инфекций; *нейраминидаза* – действует на сиаловую кислоту, входящую в состав оболочек клеток слизистых, что позволяет микробам преодолевать не только слизистую оболочку, но и проникать внутрь клеток и распространяться в межклеточном пространстве.

Токсигенность. Различают два вида токсинов: экзотоксины и эндотоксины.

Экзотоксины, или истинные токсины, вырабатываются микробной клеткой при жизни и выделяются в ткани организма или питательную среду, в которой они культивируются. Экзотоксины продуцируют грамположительные микроорганизмы – возбудители дифтерии, столбняка, газовой гангрены, ботулизма, некоторые виды стафилококков и стрептококков, а среди грамотрицательных – холерный вибрион, шигеллы (Григорьева – Шига). Для возбудителей чумы, коклюша, сибирской язвы характерно наличие токсинов частично секретлируемых и частично связанных с микробной клеткой.

Гены токсигенности (Тох-ген) могут быть локализованы в геноме бактерии, а также в профагах или плаزمиде. Утрата плазмиды или профага делает бактериальную клетку в таком случае нетоксигенной.

Экзотоксины обладают свойствами:

1. По **химической природе** экзотоксины являются белковыми веществами, обладают свойствами ферментов, отличаются высокой специфичностью действия, избирательно поражают отдельные органы и ткани, что находит отражение в клинических симптомах заболевания.

2. По **механизму действия** на клетки макроорганизма выделяют:

а) *мембранотоксины* – гемолизины, лейкоцидины;

б) *функциональные блокаторы или нейротоксины* – тетано-спазмин, ботулинический токсин – блокируют передачу нервных импульсов в клетках спинного и головного мозга;

в) *цитотоксины* – блокируют синтез белка на клеточном, субклеточном уровне, например, энтеротоксины золотистых стафилококков, дермонекротоксины стафилококков, палочек сибирской язвы, сине-зеленого гноя, возбудителя дифтерии;

г) *эксфолиатины* некоторых штаммов золотистого стафилококка влияют на процесс взаимодействия клеток между собой и с межклеточным веществом, вызывают пузырчатку новорожденных;

д) *эритрогенины* продуцируют пиогенные штаммы стрептококка, вызывающие скарлатину;

е) *энтеротоксины* активизируют клеточную аденилатциклазу, что приводит к повышению проницаемости стенки тонкой кишки и увеличению выхода жидкости в просвет кишечника – диарее. Такие токсины продуцируют холерный вибрион (холероген), энтеротоксигенные кишечные палочки.

3. **Высокая токсигенность** даже в минимальных дозах. Микробные экзотоксины – это наиболее сильные из известных биологических ядов. Например, токсин палочки ботулизма вызывает гибель человека в дозе 0,001 мл.

4. **Инкубационный, или скрытый, период** в действии экзотоксина исчисляется от нескольких часов до суток и более. Этим микробные экзотоксины отличаются от всех других ядов немикробного происхождения.

5. **Термолабильность** – температура 58–60 °С инактивирует экзотоксины в течение 20 минут – 1 часа.

6. **Иммуногенность** – это способность экзотоксинов при введении в организм вызывать в нем образование антител – антитоксинов, обладающих свойствами нейтрализовать действие токсина.

7. **Антигенность** – способность экзотоксина вступать во взаимодействие с антитоксином.

8. Под действием 0,3–0,4%-ного формалина и температуры 38–39 °С экзотоксины в течение 30 суток утрачивают свои токсические свойства, сохраняют антигенные свойства и превращаются в анатоксин.

Эндотоксины – это липополисахариды, находятся в наружных слоях клеточных стенок грамотрицательных бактерий. Липополи-

сахарид имеет два вида активности: он обладает пирогенностью и токсичностью. Пирогенные свойства (повышение температуры) связано с тем, что под влиянием эндотоксинов разрушаются лейкоциты, из которых выделяются вещества, действующие на терморегулирующий центр. В отличие от экзотоксинов, эндотоксины не обладают строгой специфичностью действия на организм и вызывают общие признаки интоксикации, головную боль, слабость, одышку и т. д. Токсичность эндотоксинов для организма гораздо слабее по сравнению с экзотоксинами. Они термостабильны, некоторые из них не разрушаются даже при кипячении.

В настоящее время к факторам патогенности микробов относят «антигенную мимикрию» – способность к временному или длительному приобретению микроорганизмом антигенов человека. Встречается у возбудителей кишечных инфекций, чумы, гриппа. Антигенная мимикрия приводит к снижению иммунного ответа на внедрение ВИЧ, стрептококков.

Экспериментальная инфекция

Заражение лабораторных животных проводят с различными целями. Это:

- а) моделирование инфекционных заболеваний;
- б) выделение чистой культуры возбудителя болезни;
- в) определение факторов вирулентности и измерение летальной дозы;
- г) для получения лечебных и диагностических препаратов (сывороток, вакцин);
- д) для проверки качества вакцин и иммунных сывороток;
- ж) для испытания лечебного действия химио-терапевтических препаратов.

Отбор животных. Для целей эксперимента служат белые мыши, белые крысы, кролики, морские свинки (кошки, собаки, крупные животные, птицы в микробиологической практике используются редко). В опыт берутся животные по возможности одного возраста, одинакового веса и содержащиеся в одинаковых условиях.

Подготовка животного. Перед опытом животных взвешивают (взвешивание повторяют в течение опыта). Иногда для специальных целей в течение нескольких дней до опыта и в ходе его производится измерение температуры специальными термометрами через прямую кишку. Каждое взятое в опыт животное нумеруется. Кроликам и морским свинкам продевают в уши металлические пластинки, на которых выдавлен номер. Белым мышам и крысам окрашивают стойкими красками (например, спиртовым раствором пикриновой кислоты) различные участки тела, которые соответствуют определенным номерам.

Для введения материала необходимо фиксировать животное в спокойном неподвижном состоянии. Это делается при помощи специальных приспособлений – различного типа досок, ящиков, держателей, или животное держит помощник. При работе с мелкими животными (мыши) фиксирование и введение материала производится без помощи и без особых приспособлений, самим работающим. Затем следует подготовить место инъекции: выстригают (выбривают или выщипывают) шерсть, место инъекции дезинфицируют спиртом, йодной настойкой.

Подготовка инструментов и материалов. Шприцы и иглы стерилизуют кипячением. Материал, нужный для инъекции, помещают в стерильную посуду. Осторожно и медленно набирают в цилиндр шприца немного большее количество материала, чем требуется. Повернув шприц вертикально и иглой вверх, покрывают ее конец стерильной ватой, выталкивают из шприца пузырьки воздуха, следя за тем, чтобы материал ни в коем случае не разбрызгался. Затем вату сбрасывают в дезинфицирующий раствор.

Способы заражения животных

Заражение животных производят разными способами (подкожно, внутривенно, наочно, внутримышечно, внутрибрюшинно, внутривенно, в мозг, интраорбитально и др.) в зависимости от задач исследования и используемых животных.

Введение *под кожу* – наиболее частый способ заражения. Кожу животного захватывают в складку и вводят в неё иглу примерно

до половины, медленно вводят материал (0,5–1–2 мл) затем отпускают складку, накладывают стерильную вату на иглу и быстро извлекают её.

Внутрикожный метод применяется только со специальной целью (для «кожных проб» с токсином). Материал в небольшом объеме (0,1–0,2 мл) вводят тонкой иглой в толщу кожи. Иглу держат отверстием вверх. Если игла введена правильно, то она видна сквозь эпидермис и на месте инъекции образуется характерный пузырь.

Накожный, или кожный способ заражения представляет собой втирание материала в выбритый участок кожи или в скарифицированную кожу. Втирание производят осторожно (лучше под прикрытием стеклянной воронки) гладкой стеклянной палочкой или шпателем. Животное должно оставаться фиксированным до тех пор, пока материал совершенно не высохнет. Этим способом пользуются лишь при тех инъекциях, возбудители которых способны проникать через неповрежденную кожу (чумная палочка, спирохета).

При *внутримышечном* способе заражения, материал вводится в мышечную ткань верхней части задней конечности лабораторного животного.

При *внутрибрюшинном* заражении животное держат головой вниз, чтобы избежать ранения кишечника иглой. С этой целью пользуются иглой с притупленным концом. Инъекцию делают в нижней части живота, сбоку от средней линии. Сначала, захватив в складку кожу, прокалывают её, вводя иглу под острым углом. Затем, повернув шприц под прямым углом, толчкообразным движением прокалывают брюшную стенку. При этом ощущается своего рода «провал» иглы в брюшную полость.

Инъекции в *ток крови* производятся у различных животных по-разному: мышам, крысам и кроликам – в вену, морским свинкам – в вену и внутрисердечным способом. Внутривенное вливание кроликам осуществляется очень легко, благодаря поверхностному расположению ушных вен. Перед введением материала в вену кролика следует фиксировать, завернув его в полотенце, которое должно плотно прижать к туловищу передние и задние

лапы животного. После этого помощник крепко держит кролика одной рукой у себя на коленях или на столе, а другой сжимает ухо у корня, надавив при этом на вену, вследствие чего она сильно набухает. Инъекцию лучше производить в наружную вену, так как она плотно лежит в окружающей ткани. После прокола вены иглой, сдавливание уха следует прекратить и тогда жидкость свободно вливается в вену при самом легком надавливании поршня шприца. Окончив введение материала, прижимают вену в месте укола стерильной ватой, извлекают иглу и тотчас зажимают этой ватой место инъекции, чтобы не было кровотечения.

Внутривенное заражение белых мышей и крыс производят через хвостовую вену.

При введении заразного материала в ток крови наблюдается самый короткий инкубационный период и быстрое течение инфекции.

Для заражения морских свинок в ток крови, пользуются введением в яремную вену или в сердце. Животное надо привязать животом вверх за четыре лапы на специальном станке или доске. Помощник удерживает животное в неподвижном состоянии, положив ему на живот руку. Для введения в яремную вену её предварительно отсепааровывают. Материал вводят тонкой иглой. Затем на кожу накладывают швы.

При *внутрисердечном* заражении животных вкалывают иглу в «толчке» сердца через межреберный промежуток. Если игла введена правильно, то в шприце показывается кровь, и тогда осторожно вводят заразный материал в объеме не более 1,5–2 мл.

Заражение через *пищеварительный тракт* осуществляется примешиванием заразного материала к корму или введения его животному в рот, непосредственно в желудок через зонд. Последний способ наиболее точный.

Вскрытие и исследование органов белой мыши. Животное захватывают пинцетом, кладут брюшком вверх на деревянную доску, помещенную в эмалированную или оцинкованную кювету, и прикрепляют к доске за четыре лапки, широко раздвинув их. Производят осмотр трупа и отмечают внешние патологические

изменения, если таковые имеются. На некоторое время покрывают труп ватой, смоченной дезинфицированным раствором, чтобы при вскрытии не разлеталась шерсть, содержащая микробы, и были умерщвлены насекомые (эктопаразиты животных).

Перед самым вскрытием тщательно протирают кожу дезинфицирующим раствором или спиртом, или обжигают шерсть пламенем горелки. Вскрытие и исследование трупа животного делится на три этапа:

1. Вскрытие и исследование наружных покровов.
2. Вскрытие и исследование грудной полости.
3. Вскрытие и исследование брюшной полости.

Инструменты перед вскрытием переносят из стерилизаторов в стакан со спиртом и ватой на дне. Перед использованием инструменты обжигают над пламенем.

При вскрытии и исследовании наружных покровов делают разрез кожи (не повреждая при этом нижележащих тканей) по прямой линии от нижней челюсти до лобка, а затем боковые разрезы к лапкам. Отсепаровывают кожу в обе стороны от разреза. Отмечают изменения в подкожной клетчатке: расширение сосудов, кровоизлияние, отек, состояние лимфатических узлов и т. д. Если имеется припухание или нагноение узлов, делают из них мазки и посевы.

Вскрытие и исследование грудной клетки. Захватив пинцетом мечевидный отросток, делают под ним надрез и, вставив в него ножницы, перерезают с обеих сторон ребра в местах их соединения с хрящами. Откидывают грудину вверх, производят осмотр открывшейся грудной полости, отмечают наличие или отсутствие в ней жидкости, обращают внимание на внешний вид легких, сердца. Производят обязательный посев крови, взятой из полости сердца. Для этого прижигают поверхность верхушки сердца раскаленным скальпелем и через прижженный участок вкалывают капилляр стерильной пастеровской пипетки (запаянный конец капилляра перед посевом обламывают и проводят через пламя). Кровь выдувают по несколько капель в пробирки с бульоном и агаром. Из оставшейся крови делают мазки. После посева органы

грудной полости осматривают более подробно, и все наблюдения заносят в протокол. В случае надобности делают посев и мазки из ткани легких, плевры, экссудата.

Вскрытие и исследование брюшной полости производят после исследования грудной полости. Приподняв пинцетом брюшную стенку, разрезают её ножницами от диафрагмы до лобка (при этом ни в коем случае нельзя поранить кишечник!) и образовавшиеся лоскуты отводят в сторону. Если нужно, делают посев из экссудата. Осматривают и отмечают в протоколе состояние органов брюшной полости. Особенно внимательно осматривают печень, селезенку, делают посев и мазки. В случае надобности делают посевы и мазки из других органов брюшной полости. Материал для посева из органов берут следующим образом. Прижимают поверхность органов и на этом месте делают разрез. С поверхности разреза соскабливают петлей ткань и засевают на бульон и агар.

Мазки из органов готовят размазыванием по стеклу поверхностью разреза или отпечатками, для чего вырезают из органа небольшой кусочек и, взяв его пинцетом, несколько раз прикасаются поверхностью разреза, как печатью, к предметному стеклу. Фиксируют мазки на пламени или, если хотят сохранить структуру клеточных элементов органа, в жидком фиксаторе – смеси Никифорова (спирт и эфир поровну) – 10–15 мин, метиловом спирте – 3–5 мин. Окрашивают мазки фуксином (или метиленовым синим) и по Граму.

Во время вскрытия нужно тщательно следить за тем, чтобы зараженный материал не попадал на стол. Категорически запрещается класть прямо на стол употреблявшиеся при вскрытии инструменты. После вскрытия производят тщательную уборку рабочего места. Все инструменты кипятят, доску и кювету протирают тампонами со спиртом и обжигают или заливают на сутки дезинфицирующим раствором. Труп животного сжигают или автоклавируют. Посевы надписывают и помещают в термостат.

Методика работы по определению факторов патогенности

1. Инвазивной активностью обладают: гиалуронидаза (ее образуют стафилококки, стрептококки, бордетеллы и др.), нейраминидаза (холерный вибрион, вирусы гриппа и др.), коллагеназа, ДНК-аза, фибринолизин (стафилококки, стрептококки, возбудители чумы), лецитиназа и плазмокоагулаза (оба фермента образуют стафилококки). *Гиалуронидазную активность* определяют в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования суточной бульонной культуры стафилококка. К надосадочной жидкости добавляют смесь раствора гиалуроновой кислоты и лошадиной сыворотки. Инкубируют 20 мин при 37 °С, затем добавляют уксусную кислоту и учитывают результат. Если гиалуронидаза отсутствует и гиалуроновая кислота осталась неизменной, она при реакции с белком сыворотки в кислой среде образует муциновый сгусток – результат отрицательный. Положительным результатом остается отсутствие сгустка в пробирке. Это указывает на присутствие в надосадочной жидкости гиалуронидазы, которая ферментирует гиалуроновую кислоту.

Определение лецитиназной активности стафилококков: испытуемые культуры засевают на чашки с желточно-солевым агаром (ЖСА). Вокруг колоний стафилококков, образующих лецитиназу, видны зоны помутнения с перламутровым оттенком, что указывает на расщепление лецитина.

Определение плазмокоагулазной активности стафилококка. Испытуемые культуры вносят в пробирку, содержащую цитратную плазму и инкубируют при 37 °С. Результаты учитывают через 1, 2, 4, 8 часов. Коагулазопозитивные штаммы вызывают свертывание плазмы в пробирке, виден плотный сгусток; в контроле плазма остается жидкой.

2. Токсичность – способность микробов синтезировать токсины – вещества белковой или липополисахаридной природы, нарушающие метаболические процессы в макроорганизме. Токсины играют основную роль в патогенезе инфекционного процесса. Клинические проявления инфекционного заболевания связаны с действием токсинов микроорганизма.

Токсины белковой природы – *экзотоксины* – бывают секретруемые или частично секретруемые. Они отличаются по сложности строения, имеют различные механизмы действия и различную специфичность.

Токсичные липополисахариды (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных бактерий являются *эндотоксинами*. Они освобождаются только при гибели и распаде бактериальных клеток в организме. По сравнению с белковыми токсинами, эндотоксины менее токсичны и менее специфичны.

Определение гемолизина-токсина, лизирующего эритроциты, производят на чашках с кровяным агаром, засеянном стафилококками. При наличии гемолизина вокруг колоний стафилококка видны прозрачные зоны гемолиза.

3. Факторы с антифагоцитарными и адгезивными свойствами. Факторы с антифагоцитарной активностью представляют собой поверхностные структуры капсул и клеточных стенок. Они способствуют выживанию микробов, противодействуют фагоцитозу:

а) выявляют капсулу в препаратах-мазках из мокроты больного пневмонией, окрашенных водным раствором фуксина. При микроскопировании на разовом фоне видны пневмококки, окруженные неокрашенной капсулой;

б) обнаруживают корд-фактор в мазке из мокроты туберкулезного больного, приготовленном методом микрокультивирования на предметном стекле и окрашенном по Цилю – Нильсену. В поле зрения видны скопления тесно склеенных палочек красного цвета в виде жгутов (кордов). Такое расположение туберкулезных микобактерий указывает на присутствие в клеточной стенке токсического вещества корд-фактора.

Демонстрация

1. Чашка с результатом посевов кусочков органов зараженной мыши.
2. Чашки с проявлением действия ферментов патогенности: на кровяном агаре – гемолизина, на ЖСА – лецитиназы; на цитратной плазме – плазмокоагулазы.
3. Таблицы по экспериментальной технике.

Контрольные вопросы

1. Формы взаимодействия микро- и макроорганизмов: мутуализм, комменсализм, паразитизм. Паразитизм факультативный, облигатный, внеклеточный и внутриклеточный. Особенности паразитизма бактерий, хламидий, риккетсий, микоплазм, вирусов и грибов.

2. Определение понятия «инфекция» «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь», условия развития этих состояний.

3. Стадии (фазы) инфекционного процесса – адсорбция и адгезия, колонизация, инвазия продукция токсических субстанций.

4. Понятие о патогенезе инфекционных болезней. Формы инфекции. Источники инфекции. Понятие об антропонозных, зоонозных и сапронозных инфекциях. Входные ворота инфекций, механизмы передачи инфекции: воздушно-капельный и воздушно-пылевой, контактно-бытовой, половой, фекально-оральный, трансмиссивный, ятрогенный. Пути распространения микробов в организме (местная, очаговая, генерализованная, антигенемия, бактериемия, вирусемия, токсинемия, сепсис, септицемия, септикопиемия. Динамика развития инфекционной болезни, периоды (инкубационный, продромальный разгар, реконвалесценции

Формы инфекции: экзогенная, эндогенная, моноинфекция и смешанная (микст), острая и хроническая, персистирующая, медленная, типичная и атипичная, манифестная и бессимптомная, рецидив, реинфекция, суперинфекция, вторичная инфекция, бактерионосительство.

5. Патогенность и вирулентность. Единицы измерения вирулентности, методы определения вирулентности микробов.

6. Факторы патогенности у микробов: адгезия, колонизация, пенетрация, инвазивность, агрессивность, токсигенность, антифагоцитарная активность.

7. Ферменты патогенности микроорганизмов, их определение.

8. Токсины микроорганизмов, их свойства и механизмы действия.

Белковые токсины (экзотоксины), их отличия от эндотоксинов, классификация: по механизму действия (мембранотоксины, цитотоксины, функциональные блокаторы, токсины-эксфолианты); в зависимости от поражаемых мишеней (энтеротоксины, нейротоксины, дермонекротоксины, гемолизины, лейкоцидины).

Эндотоксины бактерий.

9. Роль макроорганизма в развитии инфекционного процесса.

10. Роль внешней среды в развитии инфекционного процесса.

11. Экспериментальная техника: цели и задачи. Способы заражения животных.

12. Каковы критерии отбора животных для эксперимента?

13. Вскрытие и бактериологическое исследование трупа животного, погибшего от экспериментальной инфекции.

Инфекционный иммунитет и прикладная иммунология

План

1. Доиммунные неспецифические механизмы резистентности к инфекции.

2. Инфекционный иммунитет.

У человека различают два уровня защиты от инфекции:

а) доиммунный, неспецифический; б) иммунный, специфический.

Теоретический блок

К *доиммунным неспецифическим* врожденным факторам противомикробной защиты организма относятся: состояние кожных и слизистых покровов, нормальная микрофлора, ферменты полости рта и желудочно-кишечного тракта, фагоцитирующие

клетки, естественные киллеры, система комплемента, интерферон, лизоцим, интерлейкины, β -лизины, система пропердина.

Первым барьером на пути проникновения микробов во внутреннюю среду организма являются *кожа и слизистые оболочки*. Здоровая неповрежденная кожа и слизистые непроницаемы для большинства микробов. Через них способны проходить лишь возбудители особо опасных инфекций – чумы, бруцеллеза, сибирской язвы, поэтому работа с ними проводится в специальных защитных костюмах. Помимо чисто механической функции кожа и слизистые оболочки обладают бактерицидным действием. Большинство бактерий не способны долго существовать на коже из-за прямого губительного действия молочной кислоты и жирных кислот, содержащихся в поте и секрете сальных желез.

Реснитчатый эпителий верхних дыхательных путей осуществляет механическую защиту, так как движение ресничек постоянно удаляет слизь вместе с попавшими в дыхательные пути микроорганизмами. Такую же функцию выполняет эпителий ЖКТ, мочевыводящих путей. Так, желудочный сок с его кислотностью и выраженной ферментативной активностью убивает различных микробов, поступающих с пищей (опыт Петенкофера, Мечникова, Жупиля).

Нормальная микрофлора организма является антагонистом патогенных микробов, препятствует адгезии и колонизации слизистых оболочек и кожных покровов, способствует созреванию иммунной системы.

Некоторые микробы, преодолев кожно-слизистый барьер, попадают в подкожную клетчатку, где возникает очаг воспаления. Место внедрения и размножения возбудителей ограничивается от окружающих тканей. Активность микробов угнетается, они поглощаются и перевариваются фагоцитами. Продукты распада удаляются из организма.

Фагоцитоз (от греч. phago – пожираю и cytos – клетка) представляет собой процесс поглощения и переваривания микроорганизмов или других антигенных веществ клетками мезодермального происхождения.

Фагоцитоз открыл И.И. Мечников. Клетки, способные к фагоцитозу, он назвал фагоцитами и разделил на микрофаги и макрофаги. К микрофагам были отнесены полиморфно-ядерные лейкоциты, к макрофагам – клетки соединительной ткани, эндотелия сосудов, ретикулярные клетки печени, почек, легких и др.

Механизмы и стадии фагоцитоза

1. Первая стадия – положительный хемотаксис или направленное движение фагоцита в сторону объекта захвата – микроба или других частиц в результате реакции на аттрактант – физический или химический фактор, например, липолисахарид микробной клетки, метаболиты.

2. Вторая стадия – адсорбция частиц на поверхности макрофага происходит в результате рецептор-опосредованного взаимодействия.

3. Третья стадия – инвагинация клеточной мембраны, захват микроба и погружение его в протоплазму.

4. Четвертая стадия – образование фагосомы, т. е. вакуоли в протоплазме вокруг поглощенного микроба.

5. Пятая стадия – слияние фагосомы с лизосомой фагоцита, содержащей десятки ферментов и образование фаголизосомы. В фаголизосоме происходит переваривание захваченного микроба, ферментами. Такой фагоцитоз считается завершенным неиммунным.

В некоторых случаях, при незавершенности фагоцитоза, захваченные фагоцитом микроорганизмы, выживают и размножаются в нем, например, гонококки, туберкулезная палочка. Завершенности фагоцитоза препятствуют наличие капсулы у микробов, продукция веществ, подавляюще воздействующих на разные стадии фагоцитоза. При некоторых инфекциях для усиления фагоцитоза включаются иммунные механизмы (бруцеллез). Такое усиление фагоцитоза называется опсонизацией. Опсонины (*лат.* opsonin – усиливать) – это Ig, M, G, C-реактивный белок, липолисахаридсвязывающий протеин, манансвязывающий лектин, сурфактантные белки A, D – обрабатывают антиген, облегчая захват фагоцитом. Для характеристики активности фагоцитоза

определяют фагоцитарный показатель – среднее число бактерий, поглощенных одним фагоцитом и опсонофагоцитарный индекс – отношение фагоцитарных показателей, полученных с иммунной и неиммунной сыворотками.

Если воспалительный барьер прорывается, микробы попадают в лимфатические сосуды, а оттуда – в регионарные лимфоузлы, которые задерживают микроорганизмы чисто механически и, кроме того, в них идет усиленный фагоцитоз. Так осуществляется барьерфиксирующая функция лимфоузлов.

Прорвав лимфатический барьер, возбудитель попадает в кровь. В норме кровь стерильна и обладает сильно выраженным бактерицидным действием, которое обеспечивается фагоцитарной активностью нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, эндотелия сосудов, активностью естественных киллеров, обладающих неспецифической противовирусной, противопаразитарной и противоопухолевой активностью.

В крови содержатся многочисленные гуморальные механизмы неспецифической защиты. Это система комплемента, лизоцим, β -лизины, лейкины, интерферон, система пропердина.

Комплемент – (лат. *completo* – дополняю) представляет собой сложную многокомпонентную систему белков сыворотки крови, которые реагируют между собой в определенной последовательности и обеспечивают растворение микробной или другой клетки. Комплемент состоит из 9 компонентов, их обозначают С1, С2, С3 ... С9. Белки комплемента являются глобулинами или гликопротеинами, вырабатываются макрофагами, нейтрофилами. В организме комплемент находится в неактивном состоянии и активизируется в момент образования комплекса «антиген – антитело». Существует два пути активации комплемента: классический и альтернативный.

При *классическом пути* к комплексу «антиген – антитело» происходит присоединение вначале компонента С1, затем к образовавшемуся комплексу «антиген – антитело» присоединяется С2 и далее, последовательно, ранние компоненты комплемента С4, С2, С3. Они активизируют с помощью ферментов компонент С5. Компонент С5 прикрепляется к мембране клетки и на нем образуется

литический комплекс из поздних компонентов комплемента C6, C7, C8, C9. Этот литический комплекс называют мембраноатакующим, так как он осуществляет лизис клетки.

Альтернативный путь активации комплемента происходит без участия антител и осуществляется до выработки антител в организме. Процесс начинается с активации компонента C3 в результате прямого действия антигена, например, липополисахарида микробной клетки или антигенов вирусов. Активированный комплемент взаимодействует с ферментами и белком пропердином. Образовавшийся комплекс активирует компонент C5 на котором и формируется мембраноатакующий комплекс, как и при классическом пути активации комплемента. При этом не участвуют компоненты C1, C2, C4.

Таким образом, классический и альтернативный пути активации комплемента завершаются образованием мембраноатакующего литического комплекса. Этот комплекс внедряется в мембрану и нарушает её целостность, в результате клетка гибнет.

Интерферон (ИФ) представляет собой белок, вырабатываемый многими клетками в ответ на внедрение вируса. Интерферон через геном клетки влияет на процессы репродукции вируса или пролиферацию клетки. Значение интерферона:

1) играет большую роль в поддержании резистентности организма к вирусам, поэтому его применяют для профилактики и лечения многих вирусных инфекций (грипп, аденовирусы, герпес, гепатит);

2) антипролиферативное действие используют для лечения злокачественных опухолей;

3) иммуномодулирующее свойство γ -ИФ – для коррекции работы иммунной системы при различных иммунодефицитах. В настоящее время интерферон получают в промышленных масштабах с помощью биотехнологий (генной инженерии). Ген из лейкоцитов, ответственный за синтез интерферона, встраивают в геном кишечной палочки, получают рекомбинантные штаммы кишечной палочки, способные продуцировать интерферон.

Лизоцим – белок, содержащийся в крови, слюне, слезной и тканевой жидкости, во всех биосредах макроорганизма, за исклю-

чением мочи и спинномозговой жидкости. Это протеолитический фермент (мурамидаза), разрушающий клеточную стенку бактерий и других клеток, вызывая их гибель и способствуя фагоцитозу. Снижение содержания лизоцима приводит к учащению воспалительных заболеваний.

Лейкины – протеолитические ферменты, освобождающиеся при разрушении лейкоцитов, нарушают целостность поверхностных белков микробных клеток.

Система пропердина – комплекс белков, обладающих противовирусной, антибактериальной активностью.

Основные механизмы инфекционного иммунитета

Инфекционный иммунитет – это способ защиты организма от микроорганизмов и их токсинов. К его основным механизмам относятся *гуморальный* – продукция антител, и *клеточный* – образование Т-клеток эффекторов (Т-киллеров). По своей направленности инфекционный иммунитет может быть антибактериальным, антитоксическим, противовирусным, противогрибковым, противопротозойным. Различают несколько видов инфекционного иммунитета.

Врожденный иммунитет обнаруживается уже при рождении. Это генетический признак, который передается по наследству. Примерами подобной формы невосприимчивости может служить невосприимчивость человека к чуме рогатого скота, к чуме собак и другим заболеваниям животных, а также невосприимчивость животных к гонорее, кори и дифтерии, другим заболеваниям, свойственным человеку.

Напряженность врожденного иммунитета высокая, но его нельзя считать абсолютным, так как известны случаи, когда животные, невосприимчивые к данной инфекции, при известных условиях становятся восприимчивы. Можно, например, заразить сибирской язвой курицу, если искусственно снизить температуру ее тела до 37 °С (нормальная температура у кур 41–42 °С) или голубя, если предварительно отравить его алкоголем; вызвать столбняк у лягушек, невосприимчивых к этому заболеванию, если поместить их в термостат при 37 °С.

Приобретенный иммунитет не передается по наследству, он приобретается в течение жизни. Различают естественный и искусственный приобретенный иммунитет. И тот, и другой могут быть активным или пассивным. Естественный активный иммунитет возникает после перенесенной инфекции. Он может быть прочным. Так, после перенесения кори – пожизненно; сыпного тифа, скарлатины – долгие годы. Пассивный передается от матери через плаценту или с грудным молоком. Новорожденные дети устойчивы к дифтерии, скарлатине, кори и др. Длительность пассивного иммунитета – несколько месяцев.

Искусственный активный иммунитет возникает после введения вакцин. Иммунитет при этом формируется не сразу и держится сравнительно долго. Искусственный пассивный иммунитет возникает после введения готовых антител, содержащихся в сыворотке гипериммунизированных животных или клеток – Т-эффекторов, т. е. сам организм их не вырабатывает, поэтому он быстро исчезает.

Иммунитет может быть стерильным, свободным от соответствующего возбудителя, и нестерильным, при котором возбудитель соответствующего заболевания сохраняется в организме. Таков иммунитет при туберкулезе, сифилисе и некоторых других болезнях.

Практическое задание и методика работы

Для оценки доиммунных неспецифических механизмов резистентности к инфекции изучить:

1. Содержание лизоцима, комплемента, цитокинов в сыворотке крови, слюне и других биологических жидкостях организма.
2. Фагоцитарную реакцию клеток.

Содержание лизоцима в слюне или сыворотке крови определяют методом титрования с использованием культуры *Micrococcus lysodeicticus*. Лизис бактерий можно наблюдать по просветлению или измеряя спектрофотометрическим методом изменение оптической плотности микробной взвеси после инкубации ее с разведениями лизоцима.

Содержание комплемента сыворотки крови определяют методом титрования по 50%-ному гемолизу. Метод основан на

комплементзависимом лизисе нагруженных антителами эритроцитов барана. За единицу активности комплемента принимается такое количество комплемента, которое вызывает 50%-ный гемолиз в стандартных условиях. Отдельные компоненты системы комплемента определяют иммунохимическими методами при помощи моноклональных сывороток.

Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов морской свинки в опыте фагоцитоза

Реактивы: 2%-ный раствор лимоннокислого натрия, суточная культура стафилококка, краситель Романовского – Гимзы.

Этапы опыта

В чистую пробирку помещают 0,1 мл (половина объема капилляра Панченко) 2%-ного раствора лимоннокислого натрия.

Ножницами или лезвием надрезают ушную вену морской свинки; первую каплю крови убирают сухой ваткой, затем капилляром берут 0,2 мл (полный капилляр) крови.

Смешивают кровь с лимоннокислым натрием в пробирке; сюда же добавляют 0,1 мл (полкапилляра) стандартной взвеси стафилококков.

Помещают в термостат на 30 мин, смесь центрифугируют, затем готовят тонкий мазок, фиксируют смесью Никифорова, окрашивают по Романовскому – Гимзе.

Определяют фагоцитарный показатель и фагоцитарное число (на 100 нейтрофилов). Фагоцитарное число – процент клеток, вступивших в фагоцитоз, от общего количества подсчитанных лейкоцитов. Фагоцитарный показатель – среднее число фагоцитированных микробов.

Демонстрация

1. Мазки с незавершенным фагоцитозом:
 - а) стафилококков;
 - б) гонококков.
2. Таблицы по неспецифическим факторам защиты.

3. Задание:

а) изучить в приготовленных мазках разные стадии фагоцитоза, зарисовать;

б) микроскопировать мазки из гноя больных острой гонореей, зарисовать в поле зрения большое количество лейкоцитов и лейкоциты, фагоцитировавшие много диплококков *Neisseriae gonorrhoeae*.

Роль окружающей среды и социальных условий в развитии инфекционных болезней

Все факторы, ослабляющие организм, при наличии заражения способствуют возникновению инфекции. Наиболее важными факторами, понижающими резистентность организма к инфекционным заболеваниям, являются: голодание или хроническое недоедание, переутомление, охлаждение, нервные и психические травмы, возраст, гормональные сдвиги и т. д.

Пониженное питание ведет к общему ослаблению всех защитных механизмов организма против болезнетворного действия микробов. При голодании наблюдается нарушение обмена белков, что приводит к истощению имеющихся резервов белка и подавлению синтеза иммуноглобулинов. Кроме того, при белковом голодании снижается фагоцитарная активность макрофагов и уменьшается количество лейкоцитов. Поэтому голодные годы сопровождаются высокой заболеваемостью и смертностью населения от инфекционных болезней.

Особое значение имеет содержание в пище витаминов. При недостатке витамина А происходит нарушение окислительных процессов, в результате резко снижается барьерная функция кожных и слизистых покровов, что облегчает проникновение микроорганизмов через эти ткани. Недостаток витаминов групп В, С способствует понижению сопротивляемости к туберкулезу, проказе, стрептококковым, стафилококковым и другим инфекциям.

Чувствительность к инфекции зависит от возраста макроорганизма. Так у детей раннего возраста уровень антител низкий, фагоцитарная активность более слабая, это приводит к быстрому распространению инфекционного процесса и более тяжелому исходу заболевания.

В возникновении и течении некоторых инфекционных заболеваний важную роль играет состояние ЦНС и связанная с этим физиологическая активность всех систем организма. Так, при заражении животных, находящихся в зимней спячке, обмен веществ у которых протекает на очень низком уровне, инфекционные заболевания вызвать не удастся. В течение всего периода спячки у таких животных можно выделять жизнеспособных патогенных микробов. Лишь при весеннем пробуждении животных эта латентная инфекция вспыхивает и проявляется в виде генерализованного процесса.

Солнечные лучи благотворно действуют на организм и повышают сопротивляемость организма к инфекциям. Особую опасность для организма представляет ионизирующая радиация. При этом снижается резистентность организма к инфекционным заболеваниям, активизируется нормальная микрофлора, нарушается проницаемость слизистых оболочек, уменьшается их барьерная способность, снижаются защитные свойства лимфоидной системы и крови.

Неблагоприятное действие на организм оказывают плохие санитарно-гигиенические условия труда и быта. Недостаток кислорода в помещении, избыток углекислоты и других вредных газов, пыли вызывают хроническое отравление, нарушают целостность слизистых оболочек дыхательных путей и увеличивают возможность заражения туберкулезом, актиномикозом, аспергиллезом, хроническими пневмониями, аллергическими и другими болезнями.

Таким образом, инфекция – это сложный комплекс взаимодействия микроорганизма и макроорганизма в определенных условиях внешней и социальной среды.

Контрольные вопросы

1. Реактивность и резистентность организма, их роль в развитии инфекционного заболевания.
2. Защитные механизмы и факторы естественной резистентности организма: барьерные и бактерицидные свойства кожи, слизистых оболочек, значение нормальной микрофлоры.
3. Лизоцим, комплемент, свойства, роль в естественной резистентности.

4. Бактерицидность сыворотки крови и факторы её обеспечивающие: β -лизины, система пропердина, нормальные антитела.

5. Фагоцитоз как клеточный неспецифический защитный фактор. Виды фагоцитов, стадии фагоцитоза. Завершенный, незавершенный фагоцитоз.

6. Постановка опыта фагоцитоза, определение активности и завершенности реакции. Опсонофагоцитарная реакция.

7. Роль окружающей среды и социального фактора в развитии инфекционного процесса.

Иммунная система человека. Специфические формы иммунного ответа

План

1. Органы иммунной системы: центральные и периферические. Клетки иммунной системы макрофаги, Т- и В-лимфоциты. Субпопуляции Т- и В-клеток.

2. Антигенпредставляющие клетки АПК.

3. Понятие о межклеточной кооперации в иммуногенезе. Медиаторы иммунного ответа (цитокины, лимфокины, интерлейкины).

4. Специфические формы иммунного ответа: гуморальный иммунитет (синтез антител), клеточный иммунитет, реакции гиперчувствительности, иммунологическая толерантность, иммунологическая память.

Теоретический блок

Главными задачами иммунитета является распознавание «своего» и «чужого» с целью охраны генетической чистоты вида от этого «чужого» на протяжении жизни организма. Для их решения в ходе эволюции сформировалась специализированная – иммунная – система, она представлена центральными и периферическими органами.

К центральным органам иммунитета относятся костный мозг и тимус (вилочковая железа), к периферическим – селезенка, лимфатические узлы, миндалины, скопления лимфоидной ткани

под слизистыми оболочками желудочно-кишечного, мочеполового и дыхательного трактов, лимфа и кровь.

Костный мозг

Костный мозг выполняет несколько иммунологических функций:

- служит местом происхождения стволовых клеток, которые являются родоначальниками как Т- и В-лимфоцитов, так и макрофагов и других форменных элементов крови;
- от стволовых клеток в костном мозге, в его ретикулярной строме, под влиянием гормоноподобных факторов происходят дифференцировка и созревание В-лимфоцитов, на поверхности которых формируются иммуноглобулиновые рецепторы для антигенов. При этом на каждом лимфоците формируются рецепторы только для одного антигена. Созревающие лимфоциты покидают костный мозг, поступают в периферические органы иммунной системы и становятся антиген-реактивной клеткой, способной к взаимодействию с одним из многочисленных антигенов, существующих в природе.

Тимус (вилочковая железа)

От стволовых клеток, попавших с кровью в тимус, под влиянием гормонов тимозина, тимопэтина дифференцируются и созревают Т-лимфоциты. На их поверхности появляются структуры, обладающие антигенными свойствами. Они получили название «Cluster of differentiation» (показатель дифференцировки) и обозначение CD. Основными являются субпопуляции Т-лимфоцитов, содержащие антигены CD4 или CD8. За одни сутки в тимусе возникает 300–500 млн лимфоцитов, при этом на клетках формируются рецепторы как к чужеродным, так и к собственным антигенам. В ходе созревания лимфоцитов происходит отбор Т-лимфоцитов, обладающих рецепторами для молекул главного комплекса тканевой совместимости МНС (Major Histocompatibility Complex). Такие Т-лимфоциты способны после контакта с соответствующими антигенами осуществлять специфическую иммунную реакцию.

Т-лимфоциты с рецепторами для собственных антигенов вступают в контакт с ними и погибают из-за избытка антигенного стимула.

Таким образом, в центральных органах иммунной системы происходит первичная дифференцировка лимфоцитов, (лимфопоэз), не зависящая от антигенного раздражения. Она заканчивается образованием основных субпопуляций лимфоцитов Т- и В-клеток. В периферических органах иммунной системы происходит пролиферация и вторичная антигензависящая дифференцировка лимфоцитов (иммунопоэз). Его итогом является образование функционально различных клеток.

Клетки иммунной системы

В-лимфоциты, выполняющие разные функции, составляют около 20 % всей численности лимфоцитов. Одна часть В-лимфоцитов под влиянием антигена дифференцируется в плазматические клетки, продуцирующие иммуноглобулины. Плазматическая клетка – это конечный продукт дифференцировки В-лимфоцитов. После завершения продукции антител они прекращают естественное существование, происходит апоптоз – естественная гибель.

Другая часть В-лимфоцитов в ходе иммунного ответа на антиген превращается в В-лимфоциты памяти. Они отличаются долголетием и способностью быстро отвечать на повторное поступление антигена. В-лимфоциты памяти рециркулируют между кровью, лимфой и лимфоидными органами и больше всего накапливаются в периферических лимфоидных органах.

Есть также В-лимфоциты – антигенпрезентирующие клетки (АПК), участвующие в представлении антигенов Т-лимфоцитам. Как АПК В-лимфоциты вступают в контакт с антигеном через свои специфические рецепторы, после чего антиген подвергается эндоцитозу и через несколько часов появляются на мембране клетки в комплексе с молекулами МНС II класса. Затем В-лимфоцит вступает в прямой контакт с Т-лимфоцитом и служит сигналом к его активации.

Т-лимфоциты происходят так же, как и В-лимфоциты, от стволовой клетки костного мозга, а созревают и дифференцируются

в тимусе. На долю этих клеток приходится около 80 % всей лимфоидной популяции. В процессе дифференцировки и пролиферации Т-лимфоциты образуют субпопуляции, различающиеся по своим функциям: одни выполняют регуляторные функции, другие – эффекторные. Регуляторные клетки – Т-хелперы – обеспечивают развитие иммунного ответа другими клетками, регулируют его дальнейшее течение.

На наружной поверхности их цитоплазматической мембраны определяются молекулы CD_4 , а также $\alpha\beta$ Т-клеточные рецепторы к антигену, представленному в комплексе с МНС II класса. После воздействия антигена Т-хелперы пролиферируют и дифференцируются на две субпопуляции Т1-хелпер и Т2-хелпер. Они различаются лишь по функции и по спектру продуцируемых цитокинов. Т1-хелпер образует ИЛ-2, 3, γ -интерферон (ИФ), фактор некроза опухолей (ФНО) и другие, необходимые для развития клеточного иммунного ответа, гиперчувствительности замедленного типа, иммунного воспаления. Т2-хелпер продуцирует ИЛ-4, 6, 9, 10, 13 и др., которые поддерживают гуморальный иммунный ответ, а также гиперчувствительность немедленного типа.

Эффекторные Т-лимфоциты киллеры осуществляют эффект иммунологической реакции чаще всего в форме цитолиза клеточных структур, к антигенам которых возникла иммунологическая реакция. Такие Т-лимфоциты еще называют Т-цитотоксическими. На поверхности их цитоплазматической мембраны определяются молекулы CD_8 , а также $\alpha\beta$ Т-клеточные рецепторы к антигену, представленному в комплексе с МНС I класса, по которому «свои» клетки отличаются от «чужих».

Антигенпредставляющие клетки

Антигенпредставляющие клетки (АПК) способны отличать собственные антигены от чужеродных и представлять их Т- и В-лимфоцитам. Без этого невозможен иммунный ответ на чужеродные антигены. Роль АПК может играть любая клетка организма, обладающая антигеном главного комплекса тканевой совместимости МНС II класса и способностью сорбировать на своей по-

верхности чужеродный антиген. В организме человека антигенами МНС II класса обладают в основном макрофаги, В-лимфоциты, дендритные клетки, а также клетки Лангерганса, эндотелиальные клетки сосудов, кератиноциты кожи. Они обуславливают гуморальный иммунный ответ.

Антигены МНС I класса имеются практически на всех клетках, их воспринимают рецепторы CD_8 лимфоцитов. Они обуславливают клеточный иммунный ответ цитотоксичность ГЗТ.

Взаимодействие (кооперация клеток) при разных формах иммунного ответа

Гуморальный иммунный ответ

В гуморальном иммунном ответе участвуют макрофаги (или другие антигенпредставляющие клетки), Т-хелперы и В-лимфоциты. Макрофаг поглощает вторгшийся в организм человека микроорганизм, расщепляет его на фрагменты. Фрагменты – антигенные детерминанты – выставляются на поверхности макрофага вместе с собственными антигенами главного комплекса гистосовместимости МНС II класса. Образовавшийся комплекс – антиген микроорганизма и антиген МНС II класса – предъядляется Т-хелперу, при этом макрофаг продуцирует интерлейкин (ИЛ) 1, который вызывает пролиферацию Т-хелперов, а они после контакта с антигеном продуцируют ИЛ2, стимулирующий пролиферацию В-лимфоцитов и их первое деление. ИЛ2 и другие Т-клеточные цитокины ИЛ4, ИЛ5 способствуют дальнейшей трансформации В-лимфоцитов вплоть до формирования плазматических клеток – продуцентов иммуноглобулинов. Одновременно формируются В-лимфоциты памяти, обеспечивающие быстрый и сильный ответ на повторное действие антигена.

Клеточный иммунный ответ

В клеточном иммунном ответе участвуют CD_8 Т-киллеры, они же цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ). Цитотоксические свойства CD_8 лимфоциты приобретают в ходе дифференцировки после контакта с антигеном. Этому способствует ИЛ-2, секретируе-

мый Т-хелперами. В результате активации формируются два вида CD₈-лимфоцитов – цитотоксические лимфоциты и клетки памяти.

Для стимуляции CD₈-лимфоцитов необходим антиген МНС I класса, которым обладают все ядерные клетки организма. Т-киллеры анализируют клетки собственного организма в поисках измененной структуры, отличающейся от структуры комплекса антигенов МНС I класса. Такие признаки генетической чужеродности несут на своей поверхности мутантные клетки, клетки пораженные вирусом, клетки трансплантата. Поэтому они являются мишенью для Т-киллера. Т-киллер устраняет клетки-мишени путем цитотоксичности, для чего синтезирует ряд токсических субстанций – перфорин и гранзимы (гранулизин – перфорин – токсический белок). Перфорин встраивается в цитоплазматическую мембрану клетки мишени, в результате образуется дефект цитоплазматической мембраны, который приводит к осмотическому лизису клетки-мишени.

Гранзимы и лигранулизины – вещества с ферментативной активностью, они запускают в клетках-мишенях апоптоз и гибель клеток-мишеней. Поэтому Т-киллер называют «серийным убийцей». За короткий срок он может уничтожить несколько клеток-мишеней. CD₈-лимфоциты играют ведущую роль в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете.

К цитотоксическим лимфоцитам по происхождению и функциям близки естественные киллеры (ЕК), которые имеют общих предшественников с Т-лимфоцитами. Однако ЕК не попадают в тимус и не подвергаются дифференцировке и селекции. Они не имеют специфических рецепторов для антигенов и поэтому не участвуют в специфических реакциях приобретенного иммунитета. ЕК относятся к системе естественного иммунитета и разрушают в организме любые клетки, зараженные вирусами, а также опухолевые клетки.

Иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность – это явление обратное иммунному ответу – утрата способности реагировать на антиген. Согласно клонально-селекционной теории Бернетта, толерантность

развивается при интенсивном воздействии антигенов на организм. Бернетт это объяснял разрушением иммунокомпетентных клеток. Медавар экспериментально проверил теорию Бернетта. Для опытов он использовал линейных мышей. Линейными, или инбредными, считается популяция мышей после 20–40 братско-сестринских скрещиваний. В результате мыши становятся совершенно одинаковыми по антигенному составу, как однояйцевые близнецы. В 1953 году Медавар вместе со своими сотрудниками проводил пересадку кожи между двумя линиями мышей – линия СВА (серые мыши) и линия А (белые). Через 12–14 дней пересаженная кожа (трансплантат) отторгалась. Тогда эмбрионам беременных самок СВА через стенку матки вводили клетки селезенки и почки мышей линии А. После рождения нормальных мышей через 2 месяца им пересаживали кожный лоскут от мышей А. Кожный лоскут не отторгался. Было доказано, что воздействие антигеном в эмбриональном периоде приводит к утрате способности организма давать иммунный ответ, т. е. к развитию иммунологической толерантности (терпимости). За работы по изучению естественной толерантности Медавар и Бернетт были удостоены Нобелевской премии. Сходные данные были получены и на цыплятах.

Иммунологическая толерантность – это состояние, когда организм не реагирует на повторный контакт с антигеном.

Толерантность во взрослом состоянии – приобретенная, бывает трех видов:

1. *Толерантность высокой дозы* – иммунологический паралич – это полная неспособность реагировать на антиген, развивается после введения большого количества антигена.

2. *Толерантность низкой дозы* развивается после многократного введения очень малых количеств антигена.

3. *Лекарственно-индуцированная толерантность* – возникает при подавлении иммунной системы цитостатиками или иммунодепрессантами, такими как 6-меркаптапурин, имуран, антилимфоцитарная сыворотка, рентгеновское облучение и др. Именно этот прием используют, чтобы вызвать толерантность к трансплантату у людей.

В основе механизма толерантности лежат следующие процессы:

- разрушение специфически реактивного клона клеток (вытекает из теории Бернетта);
- образование блокирующих антител, которые связывают антиген, не давая развиться видимому иммунному ответу;
- образование и активация клеток супрессоров, подавляющих антиген-реактивные клетки.

Особенности иммунитета при бактериальных инфекциях

При бактериальных инфекциях иммунитет может быть антибактериальным или антитоксическим.

Основным механизмом антибактериальной защиты является фагоцитоз. В иммунном организме эффективность фагоцитоза повышается за счет опсонизирующего действия специфических антител. Антитела специфически взаимодействуют с антигенными детерминантами (эпитопами) на поверхности микроорганизмов, образуют с ними иммунные комплексы, что ведет к активации мембраноатакующего комплекса системы комплемента и лизису микробных клеток, которые быстрее и легче захватываются фагоцитами при участии Fc-рецепторов. При этом ускоряется и облегчается внутриклеточная гибель и переваривание. В антитоксическом иммунитете защитная роль антител определяется их способностью нейтрализовать токсины.

Антибактериальная защита слизистых оболочек обеспечивается секреторными антителами класса А, которые, взаимодействуя с поверхностными антигенами бактерий, препятствуют их адгезии на эпителиальных клетках. Вместе с тем, гуморальная защита малоэффективна против внутриклеточно паразитирующих бактерий, риккетсий, хламидий, микоплазм, грибов, простейших, вирусов. Против этих возбудителей более эффективны клеточные механизмы специфического иммунитета – ГЗТ, цитотоксическая активность Т-киллеров, ЕК-клеток, макрофагов. Напряженность клеточного иммунитета измеряется путем постановки кожно-аллергических проб, РБТЛ, РТМЛ. Для выявления специфических

антител в сыворотке крови больного при большинстве бактериальных инфекций проводится серодиагностика.

Особенности иммунитета при вирусных инфекциях

Вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами, от этого зависит характер иммунитета. Против внутриклеточных форм вирусов антитела не эффективны, они также не действуют на вирусные ДНК и РНК, не влияют на внутриклеточную репродукцию вируса. Антитела против вирусных антигенов могут нейтрализовать внеклеточные формы – вирионы, препятствуя их взаимодействию с клетками организма и распространению вирусной инфекции. Эффективно инактивирует вирус на поверхности слизистых оболочек секреторный IgA, обеспечивая местный противовирусный иммунитет во входных воротах инфекции. О напряженности противовирусного иммунитета судят по нарастанию титра специфических антител в сыворотке крови больного в динамике заболевания. Однако основной механизм противовирусного иммунитета связан с клеточным иммунным ответом. Поскольку клетки, зараженные вирусом, несут на своей мембране его антигенные детерминанты, они становятся «мишенями» для Т-киллеров и НК-клеток, участвующих в реакциях антителозависимой цитотоксичности. При этом зараженные клетки погибают вместе с вирусами.

Мощным фактором противовирусного иммунитета является интерферон, который вызывает в клетке, инфицированной вирусом, индукцию ферментов, подавляющих синтез компонентов вирусов, обуславливая состояние антивирусной резистентности. Поэтому профилактический эффект интерферона выражен сильнее, чем лечебный.

Противоопухолевый иммунитет

Между состоянием иммунной системы и возникновением злокачественных опухолей существует тесная связь и об этом свидетельствуют следующие факторы:

а) повышенная заболеваемость злокачественными новообразованиями среди лиц с иммунодефицитами первичными и вторичными;

- б) повышенная частота возникновения опухолей в старческом возрасте в связи с пониженной активностью иммунной системы;
- в) наличие у больных с опухолями специфических антител к опухолевым антигенам;
- г) возможность экспериментального воспроизведения иммунитета к опухолям при введении антигенов;
- д) возникновение опухоли при искусственном подавлении иммунитета.

Иммунная система осуществляет иммунологический надзор – постоянно следит за появлением клеток-мутантов, распознает их и уничтожает. В случае ослабления иммунной системы или повышения частоты мутаций возникает возможность сохранения и размножения клеток-мутантов, т. е. образования опухолей. Опухоли имеют свои специфические антигены: вирусные, эмбриональные, канцерогенные, вызванные химическими и физическими (все виды излучений) воздействиями. Поскольку любые опухолевые антигены являются чужеродными для организма, они вызывают гуморальные и клеточные реакции.

Основную роль в противоопухолевом иммунитете играют Т-лимфоциты и особенно естественные киллеры (НК), sensibilizированные к опухолевым антигенам. Они распознают антигенные детерминанты опухолевых клеток, прикрепляются к поверхности этих клеток, выделяют цитотоксины – ферменты, которые разрушают стенку клетки, делают ее мишенью для фагоцитов. Опухолевая клетка поглощается фагоцитами и лизируется. Противоопухолевые антитела не играют защитной роли, иногда стимулируют развитие опухоли потому, что они связывают антигенные рецепторы опухолевой клетки и препятствуют их контакту с Т-лимфоцитами-киллерами.

Противоопухолевый иммунитет мало влияет на течение уже развившейся опухоли. Это объясняется несколькими причинами:

- а) связыванием антиген-распознающих рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов-киллеров опухолевыми антигенами;
- б) отсутствием защитного эффекта у противоопухолевых антител;
- в) иммуносупрессивным действием опухоли;

г) интенсивностью роста злокачественных новообразований, опережающего скорость развития иммунитета.

Иммунодиагностика опухолей основана на определении в крови опухолевых антигенов и антител, а также лимфоцитов, сенсibilизированных к опухолевым антигенам.

Для лечения опухолей применяют иммуномодуляторы, стимулирующие деятельность иммунной системы – интерлейкины 1,2; γ -интерферон.

Контрольные вопросы

1. Система иммунитета, её значение.
2. Иммунитет: врожденный, приобретенный, активный, пассивный, инфекционный, неинфекционный, стерильный, нестерильный.
3. Какие органы иммунной системы относят к центральным и периферическим? Их функции.
4. Назовите основные популяции и субпопуляции клеток иммунной системы. Каковы их основные функции и маркеры?
5. Назовите основные проявления клеточного и гуморального иммунитета.
6. Что такое иммунологическая память и иммунологическая толерантность? Какова их роль?
7. Что такое цитокины? Какова их роль в иммунном ответе?
8. Механизм межклеточной кооперации в реализации первичного иммунного ответа. Какие клетки при этом участвуют?
9. Особенности иммунитета при бактериальных, вирусных инфекциях и онкологических заболеваниях.

Антигены и антитела.

Серологический метод исследования

План

1. Антигены, их природа, свойства, применение (полноценные, неполноценные – гаптены). Антигены бактерий и вирусов. Антигены групп крови, антигены гистосовместимости, аутоантигены, опухолевые, трансплантационные антигены.

2. Антитела (иммуноглобулины), их структура, свойства, функции. Классы иммуноглобулинов, их характеристика. Неполные антитела. Динамика и механизм образования антител.

3. Методы выявления и идентификации специфических антигенов и специфических антител.

4. Реакция агглютинации (РА): механизм, роль ингредиентов и способы их получения, варианты, методы постановки, практическое значение.

5. Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА). Ингредиенты, цель использования.

6. Реакция преципитации (РП): механизм, ингредиенты, варианты постановки, разновидности (кольцепреципитации, преципитация в агаре, реакция флоккуляции).

7. Реакция нейтрализации (РН) токсина антитоксической сывороткой. Практическое применение.

8. Иммуноблотинг. Практическое применение.

Теоретический блок

Антигены – это генетически чужеродные вещества, которые, попав в организм или образуясь в нем, вызывают развитие специфического иммунного ответа. Иммунный ответ может быть:

- гуморальный – с выработкой антител;
- клеточный – с накоплением сенсibilизированных лимфоцитов;
- состояние иммунологической толерантности к антигену;
- гиперчувствительность немедленного или замедленного типа;
- иммунологическая память.

Антигенами могут быть белки, соединения белков с различными веществами – липополисахаридами, гликопротеидами, липопротеидами, нуклеопротеидами. Из комплекса антигенов состоят бактерии, простейшие, грибы, вирусы, их токсины, клетки животных, растений, яды змей и др.

Молекула любого антигена состоит из двух функционально различных частей: 1 – детерминантная группа или эпитоп;

2 – проводниковая часть антигена. Детерминанта (эпитоп) определяет специфичность антигена, делает его именно этим антигеном, отличает от других. Детерминанты антигена – это те его части, которые распознаются антителами и иммунокомпетентными клетками. Они состоят из 6–25 аминокислот, располагаются на поверхности проводниковой части молекулы антигена, с которой связаны все остальные признаки антигена, в том случае макромолекулярность. Антигенами могут быть вещества с большой молекулярной массой – 10000 дальтон и более. Вещества, имеющие молекулярную массу ниже 5000, являются гаптенами (неполноценные антигены). Из-за небольшой молекулярной массы они не могут фиксироваться иммунокомпетентными клетками макроорганизма и стимулировать иммунный ответ. Если молекулу гаптена искусственно укрупнить, то получится полноценный антиген, специфичность которого будет определять гаптен.

Основные свойства антигенов

Специфичность – обуславливает детерминантная группа (эпитоп).

Чужеродность – антиген вызывает иммунный ответ только в тех случаях, когда он обладает структурами, отсутствующими в организме, т. е. когда он чужероден для данного организма. Чем дальше друг от друга в филогенетическом развитии отстоят животные, тем большей антигенностью будут обладать их белки по отношению друг к другу. При пересадке органов животного человеку отторжение начинается прямо на операционном столе.

К собственным антигенам организм толерантен, т. е. отсутствует реакция иммунной системы на свои антигены, потому что клетки иммунной системы, преадаптированные к собственным антигенам, погибают из-за избыточности антигенного стимула (сверхбольшая доза антигена – высокодозовая естественная толерантность). Антигены нервной системы, глаз, репродуктивных органов отделены от иммунной системы физиологическими барьерами. Такие антигены называются забарьерными. В случаях повреждения барьеров при травме или заболевании, забарьерные

антигены поступают в общую циркуляцию и могут вызвать иммунопатологический процесс.

Иммуногенность – способность индуцировать иммунный ответ. Иммуногенность зависит от состояния организма, дозы, способа введения, интервала между прививками. Иммуногенность лучше всего проявляется при внутрикожном и подкожном введении антигена. При пероральном или ингаляторном введении создается местный, секреторный иммунитет. Иммуногенность можно изменить, если антиген смешать с другими веществами. Вещества, которые вводятся с антигенами и усиливают иммунный ответ на антиген, называются адьювантами. Это минеральные гели – гидроксид алюминия или фосфата или эмульсия воды в масле, в котором суспензированы убитые высушенные микобактерии туберкулеза (полный адьювант Фрейнда). Адьюванты используются для того, чтобы усилить антигенную активность.

Антигенность – способность антигена избирательно реагировать со специфичными к нему антителами или антигенраспознающими рецепторами лимфоцитов.

Антигенная мимикрия. Микроорганизмы, инфицирующие человека, приобретают антигены, сходные с антигенами человека. Это называется антигенной мимикрией. К таким антигенам не вырабатывается иммунный ответ, поскольку они не воспринимаются организмом как чужеродные, и микроорганизмы выживают.

Перекрестно реагирующие антигены

Чужеродные антигены, обладающие структурами, сходными с антигенами хозяина, получили название перекрестно реагирующих антигенов (ПРА). Некоторые штаммы гемолитических стрептококков обладают ПРА с антигенами эндокарда, почечных клубочков и нервной ткани, что способствует развитию таких аутоиммунных заболеваний, как ревматизм, гломерулонефрит, хорея потому, что ПРА в комплексе с другими антигенами вызывают образование аутоантител против тканей сердца, почек, нервной системы.

Антигены микроорганизмов

Соматический O-антиген связан с клеточной стенкой грам-отрицательных бактерий и представляет собой липополисахарид.

Жгутиковый H-антиген состоит из белка флагеллина, входит в состав бактериальных жгутиков.

Капсульные K-антигены полисахаридной природы имеются у бактерий, образующих выраженную капсулу (пневмококки, клебсиеллы и др. бактерии).

Vi-антиген – антиген вирулентности обнаружен у брюшно-тифозных и некоторых других энтеробактерий.

Внеклеточные антигены – вещества, секретируемые бактериями во внешнюю среду, – это экзотоксины, ферменты патогенности и др. факторы вирулентности.

Антигены вирусов: S-антиген представляет собой нуклеопротеид и белок, V-антиген – это гемагглютинин и нейраминидаза.

Антигены человека

Антигены главного комплекса тканевой совместимости обозначаются МНС-антигены (*англ.* Major Histocompatibility Complex). Каждый организм обладает уникальным набором антигенов, свойственных только ему. МНС-антигены являются гликопротеинами и содержатся на мембранах клеток организма, определяя его биологическую индивидуальность, что позволяет отличать свое гистосовместимое от чужого несовместимого. МНС-антигены – обязательные структуры в индукции иммунного ответа на любой антиген.

HLA (Human Leucocyte Antigens) – трансплантационные антигены системы гистосовместимости, наиболее полно представлены на мембране лейкоцитов.

Групповые антигены крови системы АВО и резус-антигены обнаруживают на мембране эритроцитов. По ним определяют группу крови.

Антитела – это сывороточные глобулины, образующиеся в ответ на действие антигена, поэтому их называют иммуноглобулины (Ig). Иммуноглобулины и антитела – слова-синонимы,

они осуществляют гуморальный тип иммунного ответа. Антитела специфичны – способны соединяться только с тем антигеном, под воздействием которого они образовались.

Функции антител

Антитела могут:

- склеивать (агглютинировать) клетки;
- растворять (лизировать) клетки;
- осаждать (преципитировать) антигены;
- активизировать систему комплемента;
- оказывать опсонизирующее действие (усиливать фагоцитоз);
- осуществлять аллергические реакции немедленного I, II, III типа.

По происхождению иммуноглобулины делятся на нормальные, инфекционные, постинфекционные, поствакцинальные.

Структура антител

Расшифровали структуру иммуноглобулина два исследователя – Портер из Англии и Эдельман из США (1959–1972 гг.). Эдельман обработал выделенные из крови иммуноглобулины 6-меркаптоэтанолом, который разрывает дисульфидные связи белковой молекулы и делит её на пептидные цепи. В результате такого воздействия Эдельман получил 4 полипептидные цепи. Две цепи, одинаковые между собой, имели молекулярный вес, примерно, по 25000 каждая. Их назвали L-цепи (от *англ.* light – легкий). Две другие цепи, тоже одинаковые, имели молекулярный вес по 50000 каждая. Их назвали H-цепи (от *англ.* Heavy – тяжелый). Если одна пептидная цепь в два раза тяжелее другой, значит она в два раза длиннее. Получилась конструкция иммуноглобулина, напоминающая рогатку, что подтвердилось в дальнейшем на электронно-микроскопических снимках.

Портер обработал молекулу иммуноглобулина ферментом папаином и получил 3 фрагмента примерно равной величины и обозначил их 1, 2, 3. Первые два фрагмента оказались идентичными

друг другу и состояли из L-цепи и части H-цепи. Они несли на себе активные центры молекулы и обладали способностью соединяться с антигеном, поэтому их называли Fab-1 и Fab-2 (от *англ.* fragment antigen binding), т. е. фрагменты связывающие антиген. Третий фрагмент специфической активностью антител не обладал и состоял только из участков тяжелых цепей. Его называли Fc-фрагмент (от *англ.* fragment crystalline). Дальше было установлено, сколько аминокислот находится в каждой из 4 пептидных цепей. L-цепи содержали 214–219, H-цепи – 420–700 аминокислот. Была установлена последовательность их расположения, которая может быть постоянной или переменной. Переменные участки соответствуют Fab-фрагментам, постоянные – Fc-фрагментам. Переменные участки содержат примерно 110 аминокислотных остатков как в легких, так и в тяжелых цепях. Участки такой протяженности получили название *доменов*. Легкая цепь состоит из 2 доменов, один из которых относится к переменной участку, другой – к константному участку. Переменный участок представлен также одним доменом, а константный участок включает 4 или 5 доменов в зависимости от класса иммуноглобулина. В пределах каждого домена полипептидная цепь уложена в виде петель. Три петли переменных доменов легкой и тяжелой цепей составляют гиперпеременный участок в составе антигенсвязывающего центра, специфичность которого определяется последовательностью аминокислот в концевых участках тяжелых и легких цепей. Изменение последовательности аминокислот обеспечивает возможность формирования большого числа различных структур, сочетающихся с детерминантной группой соответствующего антигена, как «ключ с замком».

Fc-фрагменты представляют собой участки тяжелых цепей с одинаковыми аминокислотными последовательностями. Постоянство строения Fc-фрагмента определяет постоянство функций данного класса иммуноглобулинов независимо от специфичности активного центра. Fc-фрагмент осуществляет фиксацию компонента на комплексе «антиген – антитело», активизирует компонент по классическому пути, обеспечивает проникновение IgG через плаценту.

Существует 5 разновидностей иммуноглобулинов (таблица 3). Они отличаются по физико-химическим, антигенным и функциональным свойствам. Легкие цепи в молекулах иммуноглобулинов представлены двумя изоантигенами: λ (лямбда) или κ (каппа). Тяжелые цепи иммуноглобулинов разных классов построены из разных белков (изоантигенов): γ – гамма, μ – мю, α – альфа, δ – дельта, ϵ – эпсилон, которые определяют их принадлежность к одному из 5 классов иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, соответственно. Специфичность иммуноглобулинов всех классов зависит от антигенсвязывающего участка, образованного гипервариабельными участками легкой и тяжелой цепей.

Таблица 3 – Свойства иммуноглобулинов

Класс	Тип тяжелой цепи	Молекулярная масса, тыс. дальтон	Содержание в сыворотке крови, г/л	Переходят через плаценту	Нейтрализуют токсины	Участвуют в агглютинации, преципитации	Связывают и активизируют комплемент по классич. пути	Участвуют в бактериализе и опсонизации антигена
IgG	γ – гамма	160	12	+	+	+	+	+
IgM	μ – мю	900	1	–	+	+	+	+
IgA	α – альфа	170 350	2,5	–	+	–	–	–
IgD	δ – дельта	180	0,03	–	–	–	–	–
IgE	ϵ – ЭПСИ-ЛОН	190	0,00025	–	–	–	–	–

Имуноглобулины класса G (IgG) составляют 80 % общего количества сывороточных иммуноглобулинов. Они обладают свойствами агглютининов, преципитинов, антитоксинов, связывают комплемент, могут переносить кожную анафилаксию. IgG – единственные антитела, способные переходить через плаценту и играют важную роль в защите новорожденного от инфекции.

Иммуноглобулины класса М (IgM) составляют около 13 % сывороточных иммуноглобулинов. Это первые антитела, появляющиеся после первичной антигенной стимуляции. Они активизируют систему комплемента, фагоцитоз, оказывают действие на микробы, циркулирующие по крови. Содержат 10 активных центров (пентамеры), поэтому их агглютинирующая и преципитирующая способность во много раз активнее, гемолитическая и опсонизирующая активность. IgM принадлежит большая часть нормальных антител – изогемагглютининов, которые присутствуют в сыворотке крови в соответствии с принадлежностью к определенной группе АВО. Они играют важную роль при переливании крови.

Иммуноглобулины класса А (IgA) составляют около 20 % общего количества иммуноглобулинов. Встречаются в форме димеров. Имеют 4 активных центра для связывания антигена. По физико-химическим свойствам подразделяют на два вида: сывороточные и секреторные. Секреторные IgA синтезируются лимфоидными клетками слизистых оболочек дыхательных путей, полости рта, кишечника, мочевыводящих путей. Содержатся в молозиве, слюне, слезах, слизи кишечника. Секреторные IgA играют существенную роль в местном иммунитете, препятствуют адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистых оболочек рта, кишечника, дыхательных и мочевыводящих путей. Они активируют комплемент по альтернативному пути, что приводит к стимуляции местной фагоцитарной защиты. Секреторные IgA препятствуют адсорбции и репродукции вирусов в эпителиальных клетках слизистой оболочки при полиомиелите, кори, аденовирусной инфекции. Сывороточные IgA обезвреживают микробы и их токсины, проникающие в кровь. В норме в крови содержится 0,00025 г/л.

IgD составляют 0,2 % сывороточных иммуноглобулинов. До сих пор не ясно, какие функции выполняют IgD. Предполагают, что они являются одним из рецепторов В-лимфоцитов.

IgE составляют 0,002 % сывороточных иммуноглобулинов. Это кожно-сенсibiliзирующие антитела, реагины. Обладают выраженной цитотильностью, способностью фиксироваться на

клетках различных органов и тканей. Играют важную роль в развитии аллергических реакций немедленного типа (бронхиальная астма, аллергический ринит, анафилактический шок и пр.).

Разные классы иммуноглобулинов отличаются способностью связывать гомологичные антигены. Полные антитела, когда участвуют два активных центра, обуславливают бивалентность антител. При этом каждый активный центр связывается с одним из эпитопов поливалентного антигена, образуя сетевую структуру, которая выпадает в осадок. Наряду с бивалентными существуют моновалентные антитела, у которых функционирует лишь один из двух активных центров, способный связываться лишь с единичной антигенной детерминантой без последующего образования сетевой структуры иммунных комплексов. Такие антитела называются неполными, они выявляются в сыворотке крови с антииммуноглобулиновой сывороткой в реакции Кумбса.

Динамика выработки антител

Когда в организм впервые попадает антиген, то первые 3–4 дня антител нет. Это время называется латентным периодом. Затем в течение нескольких дней содержание антител резко возрастает – период логарифмического возрастания антител; в период максимума титр антител поддерживается на одном уровне примерно 2 недели – месяц, после чего наступает период снижения. Такая динамика характерна для первичного иммунного ответа, когда организм первый раз встречается с антигеном.

Если организм встречается с антигеном второй, третий и т. д. раз, латентный период отсутствует. Сразу происходит логарифмическое накопление антител и период максимума достигает более высоких цифр. Поэтому для достижения выраженного иммунного ответа антиген вводят неоднократно. Организм запоминает контакт с антигеном. Это явление носит название иммунологической памяти и лежит в основе приобретенного иммунитета. Носителями иммунологической памяти являются лимфоциты.

Гибридомы и моноклональные антитела

В 1975 году Келлер и Мильштейн разработали методику, позволяющую в пробирке получать любое количество антител любой заданной специфичности. Это было достигнуто путем слияния лимфоцитов иммунизированных животных с миеломными клетками. От миеломных клеток новая гибридная клетка получает способность бесконечно размножаться, а от лимфоцита – способность синтезировать определенное антитело. Полученные в пробирке таким образом антитела могут быть использованы с лечебной и диагностической целью.

Теории иммунитета

Теория Ф. Бернетта предусматривает предсуществование в организме клонов клеток, которые способны вырабатывать антитела на любые антигены. Попавший в организм антиген вызывает активацию «своего» клона лимфоцитов, который избирательно размножается и начинает вырабатывать специфические антитела. Если же доза антигена, воздействующего на организм велика, то клон «своих» лимфоидных клеток разрушается, устраняется из общей популяции и тогда организм теряет способность реагировать на свой антиген, т. е. он становится к нему толерантным. Так, по Бернетту, формируется в эмбриональном периоде толерантность к собственным антигенам.

По теории Ерне идиотип – антиидиотипической регуляции, иммунная система представляет собой цепь взаимодействующих идиотипов и антиидиотипов, т. е. специфических структур активного центра, сформированных под влиянием антигена.

Серологические реакции – реакции взаимодействия между антигенами и специфическими антителами «in vitro», имеющие различные видимые проявления. Это реакции:

- агглютинации (РА);
- непрямой гемагглютинации (РНГА);
- преципитации (РП);
- связывания комплемента (РСК);
- нейтрализации (РН);
- иммуноферментного анализа (ИФА);

- радиоиммунного анализа;
- иммуноблотинга.

Серологические реакции используются в диагностике инфекционных заболеваний:

1) с целью определения вида выделенного микроба (неизвестного антигена) с помощью специфической иммунной диагностической сыворотки (известных антител) – такое исследование называется серологической идентификацией возбудителя;

2) для обнаружения антител (неизвестных) в сыворотке крови больного с помощью известных антигенов-диагностикумов, полученных из соответствующих микробов возбудителей заболевания, – такое исследование называется серологической диагностикой.

Методика работы

Реакция агглютинации – это реакция склеивания микробов или других клеток (корпускулярных антигенов – агглютиногенов) с образованием видимых глазом хлопьев под действием специфических антител (агглютининов) в присутствии электролитов (физиологический раствор). Реакцию агглютинации ставят как для серологической идентификации, выделенной от больного чистой культуры микроорганизма, так и для определения антител в сыворотке больного, т. е. для серологической диагностики.

1. Постановка **реакции агглютинации на предметном стекле** для идентификации неизвестной культуры микробов по антигенным свойствам.

Ингредиенты: чистая культура возбудителя заболевания, диагностическая иммунная сыворотка, которую получают от животных (обычно кроликов иммунизированных соответствующим видом микроба), физиологический раствор.

На одну половину предметного стекла наносят каплю диагностической сыворотки (опыт), на другую – каплю физиологического раствора (контроль). Петлей берут исследуемую культуру и вносят сначала в каплю с физиологическим раствором, потом – в каплю с иммунной сывороткой. Покачивая стекло, равномерно распределяют ингредиенты реакции. В течение первых минут в капле

с сывороткой происходит склеивание микробных клеток, наблюдение образование хлопьев осадка; контрольная капля остается равномерно мутной.

2. Постановка *развернутой реакции агглютинации* в пробирках с целью определения титра антител в сыворотке крови больного. Титр сыворотки соответствует наибольшему разведению при наличии агглютинации.

Ингредиенты: сыворотка крови больного брюшным тифом, диагностикум, физиологический раствор.

Техника постановки реакции указана в таблице 4.

Таблица 4 – Техника постановки реакции агглютинации

№ пробирки	1	2	3	4	5	Конт- роль анти- тел
1. Физраствор (в мл)	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
2. Исследуемая сыворотка в раз- ведении 1:50, мл	1,0	1,0*	*	*	*в дез. рас- твор	
3. Получение разведения сыво- ротки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	
4. Диагностикум (капли)	2	2	2	2	2	2

Примечание: * – перенос 1 мл содержимого из одной пробирки в следующую.

Штатив с пробирками поместить в термостат на 2 часа, после чего учитывается предварительный результат. Окончательный результат учитывается через 24 часа инкубации при комнатной температуре.

Учет реакции агглютинации

Положительный результат – образование осадка из хлопьев и просветление жидкости до полной прозрачности над осадком.

В контроле антигена и в пробирках с разведенной испытуемой сывороткой при недостатке антител, содержащее равномерно мутное – отрицательный результат.

3. **Реакция преципитации** – осаждение антигенов (преципитинов) специфическими антителами (преципитинами) в присутствии электролитов. Осаждение комплекса «антиген – антитело» наблюдается при их соответствии.

Реакция преципитации применяется с целью определения антигена по известной преципитирующей сыворотке, получаемой иммунизацией животных (чаще кроликов) соответствующими антигенами.

Реакции кольцепреципитации применяется с целью определения видовой специфичности белка крови в микробиологической, санитарной практике, судебной медицине.

Ингредиенты и техника постановки реакции кольцепреципитации указаны в таблице 5.

В пробирки с преципитирующими сыворотками, держа их в наклонном положении, осторожно наклоняют по 0,2 мл раствора антигена. Затем пробирки переводят в вертикальное положение. Учет реакции производят через 1–2 мин. В случае положительной реакции на границе между сывороткой и исследуемым материалом появляется преципитат в виде белого кольца (таблица 5).

Таблица 5 – Техника постановки реакции

Ингредиенты, мл	Пробирки	
	1-я	2-я
1. Преципитирующая сыворотка к антигенам человека	2,0	–
2. Преципитирующая сыворотка к антигенам барана	–	2,0
3. X-антиген	0,2	0,2

4. Постановка **реакции преципитации в геле** с целью определения токсигенности дифтерийных культур.

На чашку Петри с питательной средой помещают полоску фильтровальной бумаги, пропитанную антитоксической противодифтерийной сывороткой. На расстоянии 0,7 см от края полоски

засевают методом бляшек исследуемые культуры дифтерийной палочки. Чашки инкубируют при 37 °С в течение суток. При наличии токсигенной культуры в месте взаимодействия токсина с антителами-антитоксинами образуется линия преципитации в виде дуги.

5. Реакция иммуноблотинга. Иммуноблотинг – это иммунологический анализ различных биополимеров, в том числе микробных антигенов и иммуноглобулинов сыворотки крови, путем сочетания трех методов: электрофореза в полиакриламидном геле, электропереноса разделенных белков с геля на подложку и определение их с помощью ИФА. Иммуноблотинг применяют для выявления антител к отдельным антигенам или для определения антигенных детерминант по известным сывороткам.

Этапы иммуноблотинга

1. Разделение смеси биологических макромолекул (например, компонентов вириона или белков сыворотки крови) на отдельные фракции с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

2. Перенос разделенных фракций из геля на твердую подложку (блот) путем наложения пластины полиакриламидного геля на активированную нитроцеллюлозу или бумагу.

3. Выявление на подложке искомым макромолекул (антигенов или антител) с помощью прямого или непрямого иммуноферментного анализа.

С помощью иммуноблотинга возможно определить «индивидуальные» антитела к отдельным макромолекулам, например, к различным вирусным белковым антигенам, что способствует достоверности диагностики. Кроме того, прогностическое значение имеет определение в изучаемой сыворотке характерных спектров антител к отдельным вирусным белкам и выявление динамики изменения этих показателей.

Иммуноблотинг применяют при различных бактериальных и вирусных инфекциях и, в частности, при серологической диагностике ВИЧ-инфекции, которая проводится двухэтапно. *Первый этап* заключается в массовом обследовании образцов сыворотки крови на содержание антител с помощью стандартной тест-сис-

темы ИФА для ВИЧ-инфекции. На *втором этапе* проводят подтверждающую проверку отобранных положительных образцов сыворотки методом иммуноблотинга. При выявлении антител минимум к трем «индивидуальным» антигенам вируса (gp120, gp41, p24), человека считают ВИЧ-инфицированным.

6. Радиоиммунный анализ (РИА). Метод РИА основан на выявлении комплексов «антиген – антитело», которые образуются при их соответствии. Один из ингредиентов известен, другой определяют с помощью радиоактивных изотопов, которыми метят известный ингредиент. Реакцию учитывают, используя специальные счетчики радио- и γ -излучения, по убыванию или возрастанию радиоактивности (в зависимости от применяемой методики РИА).

Существуют различные модификации РИА, чаще используют твердофазный метод, который по своей технике во многом сходен с твердофазным иммуноферментным анализом. Твердофазный РИА можно проводить прямым, непрямым и конкурентным методами. Наиболее удобен непрямой метод.

С помощью непрямого твердофазного РИА возможно определять неизвестные антигены или антитела, используя меченную изотопами видовую антиглобулиновую сыворотку (против глобулинов человека или кролика).

Для выявления антител в лунках полистироловой планшеты сорбируют известный антиген, соответствующий искомым антителам, затем добавляют разведенную сыворотку больного. При соответствии антигена и антител, они образуют комплексы, остающиеся в лунках после промывания. Далее вносят меченную изотопом антиглобулиновую сыворотку против глобулинов человека, которая присоединится к комплексам «антиген – антитело» и часть радиоактивной метки окажется связанной. Определив оставшуюся несвязанную радиоактивность в жидкой фазе содержимого лунок, решают вопрос о соответствии определяемых антител антигену, а также о количественном содержании антител в сыворотке. Чем больше в сыворотке антител, тем больше радиоактивности окажется связанной и меньше радиоактивности останется в жидкой фазе.

Радиоиммунный анализ наиболее чувствительный из всех серологических методик. РИА позволяет выявить минимальные количества искомых антигенов или антител даже при их содержании в пикомолях (10 пмоль/л). Применение РИА ограничивает небезопасность работы с радиоактивными изотопами и необходимость наличия специфичной сложной аппаратуры.

Демонстрация

1. Титр антител в сыворотке больного брюшным тифом в реакции агглютинации Видаля. Обратит внимание, что при наличии агглютинации в пробирках обнаруживается осадок в виде хлопьев (агглютинат). При отрицательном результате – мутная взвесь микробов.

2. Токсигенность дифтерийной палочки в реакции преципитации *in vitro*. Обратит внимание на образование линий преципитации вблизи культур токсигенных штаммов микробов и их отсутствие около нетоксигенных штаммов.

Контрольные вопросы

1. Реакция агглютинации. Ингредиенты реакции: антигены, антитела их характеристика. Методы постановки реакции.
2. Что такое диагностикумы, для чего применяются?
3. Как получается диагностическая иммунная сыворотка, для чего применяется?
4. Реакция преципитации. Техника постановки. Применение на практике.
5. Реакция нейтрализации токсина антитоксической сывороткой (феномен флоккуляции). Получение антитоксических сывороток. Практическое использование – диагностическое, лечебное.
6. Реакция иммобилизации.
7. Реакция иммунофлюоресценции прямая и непрямая.
8. Получение и титрование иммунных диагностических сывороток.
9. Понятие о гибридомах и моноклональных антителах.
10. Механизм радиоиммунного анализа.

11. Иммуноблотинг механизм и техника постановки, цель использования.

12. Иммуноблотинг, сущность метода и этапы постановки. В чем преимущество этого метода?

13. Опишите применение иммуноблотинга в серологической диагностике ВИЧ-инфекции.

14. В чем заключается сущность радиоиммунологического анализа? Преимущества и недостатки этого метода.

Реакции с участием комплемента – реакции лизиса

План

1. Реакции иммунного лизиса: ингредиенты, механизм реакции, разновидности (гемолиз, бактериолиз).

2. Реакция связывания комплемента.

3. Реакция с использованием меченых антител или антигенов ИФА.

4. Реакция иммунофлюоресценции РИФ.

Практическое задание

1. Постановка и оценка:

а) реакции связывания комплемента Борде – Жангу;

б) реакции гемолиза;

в) реакции бактериолиза.

2. Оформление протокола практической работы.

Демонстрация

1. Флакон стерильный со стеклянными бусами.

2. В ампулах: гемолитическая сыворотка, комплемент, антигены для РСК.

3. Результат реакции бактериолиза в чашках.

4. Тест-системы для постановки ИФА.

5. Таблицы по реакциям лизиса.

Методика работы

По схеме в таблице 6 поставить *реакцию иммунного гемолиза*.

Таблица 6 – Техника постановки реакции иммунного гемолиза

Ингредиенты, мл	Номер пробирки			
	1	2	3	4
1. Гемолитическая сыворотка	0,5	-	0,5	-
2. Суспензия эритроцитов барана 5%-ная (антиген)	0,5	0,5	0,5	0,5
3. Комплемент в разведении 1:10	0,5	0,5	-	-
4. Физраствор	1,0	1,5	1,5	2,0
Результат реакции	Гемолиз		Отсутствие гемолиза	

Обратите внимание на гемолиз – растворение эритроцитов под действием антител гемолизинов в присутствии комплемента («лаковая кровь» – прозрачная жидкость алого цвета). При отсутствии гемолиза в пробирке – мутная взвесь эритроцитов.

2. По схеме в таблице 7 поставить *реакцию связывания комплемента Борде – Жангу*.

Реакция связывания комплемента происходит в 2 фазы: 1-я – взаимодействие антител исследуемой сыворотки с антигеном и комплементом; 2-я – индикаторная – определение наличия в смеси свободного комплемента путем добавления гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к эритроцитам барана. Если в первой фазе реакции происходит образование комплекса «антиген – антитело», комплемент связывается этим комплексом и во 2-й фазе гемолиз эритроцитов отсутствует (реакция положительная). Если в исследуемой сыворотке нет антител, комплемент в первой фазе реакции остается свободным и во второй фазе реакции присоединяется к комплексу «эритроцит – гемолитическая сыворотка», вызывая гемолиз (реакция отрицательная).

По схеме в таблице 8 поставить *реакцию бактериолиза*.

Пробирки помещают на 2 часа в термостат при 37 °С, после чего делают посев 0,5 мл на чашки с МПА и ставят посеvy на сутки в термостат.

Таблица 7 – Техника постановки реакции связывания Борде – Жангу

Ингредиенты, мл	Номер пробирки				
	1	2	3	4	5
1. Антиген	0,5	0,5	-	0,5	-
2. Сыворотка: х – исследуемая, п – нормальная	0,5 Sx	0,5 Sp	0,5 Sx	-	-
3. Комплемент	0,5	0,5	0,5	-	0,5
4. Физраствор	-	-	0,5	1,0	1,0
Пробирки поместить в термостат при 37 °С на один час					
5. Гемолитическая система, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Пробирки поместить в термостат при 37 °С до гемолиза в контролях					
Результат: гемолиз	Нет	Есть	Есть	Нет	Есть
реакция	Положительная	Отрицательная	Контроль антикомплементарных свойств сыворотки	Контроль гемотоксических свойств антигена	Контроль качества дозы комплемента

Таблица 8 – Техника постановки реакции бактериолиза

Ингредиенты, мл	Номер пробирки		
	1 (опыт)	2 (контроль)	3 (контроль)
1. Иммунная сыворотка	0,5	0,5	-
2. Нормальная сыворотка	-	-	0,5
3. Комплемент	0,5	-	0,5
4. Взвесь микробов	0,5	0,5	0,5
5. Физраствор	-	0,5	-

Обратите внимание, что бактериолиз учитывается по результату посева содержимого опытной и контрольных пробирок на чашки Петри с МПА. В опытной пробирке произошел бактериолиз, и поэтому роста на чашке с питательной средой нет. В контрольных

пробирках бактерии сохраняют свою жизнедеятельность и в результате на чашках появляются колонии бактерий.

4. Реакции с применением меченых антител и антигенов.

Иммуноферментный анализ (ИФА) – выявление антигенов (или антител) с помощью соответствующих им антител (антигенов), конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой или щелочной фосфатазой).

Наиболее распространен твердофазный ИФА, когда один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитело) сорбирован на твердом носителе – в лунках полистироловой планшеты.

Для выявления антител (непрямой метод) известный антиген адсорбируют в лунках планшеты, затем вносят исследуемую сыворотку, в которой хотят обнаружить антитела к данному антигену. После инкубации лунки промывают для удаления несвязавшихся белков и вносят в них антииммуноглобулиновые антитела, меченные ферментом пероксидазой. После инкубации и отмывания в лунки добавляют специфичный для фермента субстрат – перекись водорода и хромоген (орто-фенилдиамин) для регистрации конечных продуктов расщепления субстрата. По изменению цвета и интенсивности окраски раствора судят о наличии и количестве антител.

Если необходимо определить в исследуемом материале антиген (прямой метод), в лунку с сорбированными антителами вносят исследуемый материал, добавляют иммунную сыворотку против антигена, меченную ферментом, и смесь растворов субстрата для фермента и хромоген. Измерение количества продуктов ИФА проводится в автоматизированном варианте в приборах-ридерах с помощью спектрофотометра или в автоматических ридерах, измеряя оптическую плотность раствора в лунках при определенной длине волны.

К настоящему времени созданы многочисленные модификации базовой методики ИФА: конкурентные методы ИФА, сэндвич-ИФА (метод двойных антител для определения антигена) и др. Для постановки ИФА выпускаются специальные тест-системы с набором всех необходимых ингредиентов.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Реакция иммунофлюоресценции основана на том, что антитела иммунной сыворотки метят флюорохромами. Образовавшийся комплекс «антиген – антитело» легко обнаружить по наличию этой святящейся метки при люминесцентной микроскопии.

Реакция иммунофлюоресценции может быть поставлена и в не прямом варианте, когда свечение комплексу антиген – антитело придает меченая флюорохромом антиглобулиновая сыворотка (чаще всего против глобулинов кролика), вступающая во взаимодействие с антителами иммунной сыворотки.

Контрольные вопросы

1. Реакции иммунного лизиса, разновидности, механизмы.
2. Комплемент, его компоненты, участвующие в иммунных реакциях. Классический и альтернативный пути активации комплемента.
3. Практическое значение реакции гемолиза. Гемолитическая система, её состав и применение.
4. Механизм реакции бактериолиза, практическое значение.
5. Реакция связывания комплемента, системы, участвующие в реакции, ингредиенты, механизм РСК. Понятие о специфическом и неспецифическом антигене. Практическое значение РСК.
6. Механизм РИФ (прямой и непрямой, метод Кунса). Цель использования.
7. Иммуноферментный анализ (ИФА), механизм и техника постановки, цель использования.

Аллергия: ГНТ, ГЗТ

План

1. Немедленные реакции ГНТ.
2. Замедленные реакции ГЗТ.

Теоретический блок

РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Аллергия

Аллергия (allos – другой, ergon – действие). Это необычная иная форма реагирования на антиген, т. е. гиперчувствительность на антиген. Гиперчувствительность – это патологическая, чрезмерно сильная иммунная реакция на чужеродный антиген (аллерген), который приводит к повреждению тканей и органов. Аллергия может проявляться по типу гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Виды аллергенов:

- а) *растительного происхождения* – пыльца растений;
- б) *животного происхождения* – эпидермальные антигены, антигены клещей и др.;
- в) *бытовые аллергены* – пыль и др.;
- г) *пищевые аллергены* – яйцо, молоко, сыр, мясо, шоколад, ракообразные, орехи, ягоды, грибы и др.;
- д) *лекарственные аллергены* – антибиотики, сульфаниламиды, гормоны, сыворотки, витамины;
- е) *инфекционные аллергены* – антигены бактерий, грибов, простейших;
- ж) *промышленные аллергены* – полимеры, пестициды и др.

Различают четыре основных типа аллергий:

- I тип – анафилактический;
- II тип – цитотоксический;
- III тип – иммунокомплексный;
- IV тип – клеточно-опосредованный;

Первые три типа относятся к ГНТ, четвёртый тип – к ГЗТ. Немедленные реакции ГНТ связаны с образованием антител, поэтому они называются В-зависимыми. Замедленные реакции ГЗТ связаны с развитием клеточной гиперчувствительности, поэтому они называются Т-зависимыми. К ГНТ относятся аллергические реакции, проявляющиеся через несколько минут после повторной встречи с антигеном, а к ГЗТ – реакции, возникающие через 6–8 часов и позже.

Реакции гиперчувствительности I типа

Анафилаксия

Анафилаксия (от *греч.* *ана* – отсутствие, *filaxis* – защита). Это повышенная чувствительность организма к повторному введению чужеродного белка. Изменение реактивности организма, повышение его чувствительности, развивающееся после первого контакта с антигеном называют *сенсibilизацией*. Сенсibilизация происходит не сразу после введения антигена, а требует определенного времени – инкубационного периода. Максимальная степень сенсibilизации наступает примерно через 3 недели, затем ослабевает, но может сохраняться в течение многих лет. Повторное введение в сенсibilизированный организм антигена вызывает острую бурную реакцию, нередко заканчивающуюся смертью от анафилактического шока. Доза антигена, вызывающая сенсibilизацию, т. е. повышенную чувствительность называется сенсibilизирующей. Она обычно очень мала – 0,0001 мл сыворотки. Доза антигена, введенная уже сенсibilизированному организму и вызывающая анафилаксию, называется разрешающей. Разрешающая доза должна быть значительно больше (0,1 мл), чем сенсibilизирующая. Развитие анафилактической реакции зависит и от способа введения антигена – способ должен быть парентеральным. При введении в пищеварительный тракт белок разрушается и теряет анафилактогенные свойства.

Анафилаксию можно легко вызвать в эксперименте на морских свинках. Для этого их сенсibilизируют введением лошадиной сыворотки в дозе 0,001 мл подкожно. Если таким свинкам через 8–20 дней ввести внутривенно 0,1 мл той же сыворотки, они погибнут от анафилактического шока. Сразу же после повторного введения сыворотки или через 5 минут животное начинает беспокоиться, чихает, кашляет, у него затрудняется дыхание, появляются удушье, судороги всего тела, и свинка погибает от асфиксии. На вскрытии – эмфизема легких, кровоизлияния в слизистую ЖКТ. Свертываемость крови понижена, комплемент в ней уменьшен.

Склонность к анафилаксии у разных животных выражена по разному: у морских свинок преобладают явления бронхиального

спазма, эмфиземы и отека легких; у собак резко выражены кишечные расстройства, обусловленные спазмом гладкой мускулатуры кишечника; у человека на первый план выступают сердечно-сосудистые расстройства.

У человека возможность развития анафилаксии возникает при введении антитоксической лошадиной сыворотки с целью лечения дифтерии, столбняка, газовой гангрены, ботулизма.

Механизм анафилаксии

После первого контакта организма с антигеном образуется IgE, который адсорбируется на поверхности тучных клеток, базофилов. При повторном попадании в организм этого же антигена он связывается с IgE-антителами. Образовавшийся комплекс «антиген – антитело» повреждает клетки, которые в ответ на это выделяют медиаторы – гистамин, серотонин, гепарин, кинины. Они действуют на клетки, что ведет к сокращению гладкой мускулатуры бронхов, кишечника, мочевого пузыря, повышению проницаемости сосудов и другим функциональным и морфологическим изменениям. Клинически это проявляется в виде одышки, удушья, слабости, беспокойства, судорог непроизвольного мочеиспускания, дефекации и др.

Состояние сенсibilизации после контакта с антигеном сохраняется месяцами, иногда годами. Интенсивность сенсibilизации можно искусственно уменьшить путем введения малых доз антигена, которые связывают в организме часть антител. Этот принцип был использован для десенсibilизации (гипосенсibilизации), т. е. предупреждения анафилактического шока при повторных введениях антигена. Впервые способ десенсibilизации предложил русский ученый А. Безредко в 1907 году. Человеку, ранее получавшему сыворотку, вначале вводят 0,1 мл сыворотки в разведении 1:100, через 30 минут, при отсутствии признаков сенсibilизации (уртикальная сыпь, зуд), вводят 0,1 мл неразведенной сыворотки подкожно и ещё через 30 минут – всю оставшуюся дозу. Таким приемом обязательно пользуются во всех клиниках для предупреждения развития анафилактического шока.

Атопии

Атопии также относятся к ГНТ. Это слово в дословном переводе означает «странная болезнь»: у людей весной или осенью, без всякой видимой причины развивается насморк или сыпь, или отек, или возникает реакция на пищу, или на лекарства. Часто это носит профессиональный характер – у медсестер – на пенициллин, у парикмахеров – к человеческому волосу, у мукомолов – к мучной пыли и т. д. Атопия может проявиться также в виде бронхиальной астмы, аллергических дерматитов, уртикарии, сенной лихорадки и т. д.

Решающая роль в развитии этих заболеваний принадлежит наследственной предрасположенности к гиперпродукции IgE в ответ на сенсibilизацию определенным аллергеном. Возможно, это связано с наследуемым иммунодефицитным состоянием, при котором избирательно снижена активность супрессоров, контролирующих синтез IgE к данному антигену или повышенная способность клеток адсорбировать гаптены. Гаптены комбинируются с собственными белками и образуют полные антигены, на которые организм отвечает образованием IgE. И когда в организм повторно попадает тот же антиген, развивается атопия. Механизм такой же, как при анафилаксии.

Для лечения атопических болезней применяют принцип десенсибилизации – гипосенсибилизации, заключающийся в многократном введении того антигена, который вызвал сенсibilизацию.

Механизм десенсибилизирующей терапии обусловлен снижением уровня IgE и увеличением числа супрессоров.

Реакции гиперчувствительности II типа

Эти реакции получили название – цитотоксические. В их основе лежит выработка IgM и IgG, направленных против антигенов, входящих в состав клеточных мембран. Такими антигенами могут быть аутоантигены печени, почек, сердца, мозга или лекарственные аллергены, вторично фиксированные на клеточных мембранах. Антитела IgM и IgG, образующиеся в результате аутоиммунизации, к компонентам собственных клеток связываются с мембранами

этих клеток и вызывают их повреждение с участием комплемента. Таким образом, основным механизмом повреждения и гибели клеток является комплемент-зависимый цитолиз, что приводит к соответствующим клиническим проявлениям – гемолитической анемии, лейкопении, аллергическим поражениям печени, сердца, почек.

Реакции гиперчувствительности III типа

Реакции гиперчувствительности III типа обусловлены патогенным действием комплексов «антиген – антитело» (или иммунных комплексов ИК). ИК представляет собой макромолекулярную структуру, содержащую множество молекул антигена и антител. ИК активизирует комплемент и присоединяется к фагоцитам. ИК нейтрализует действие токсинов или вирусов, способствует разрушению и фагоцитозу антигенных субстратов, вошедших в состав комплекса. Однако в определенных случаях ИК способствует повреждению клеток и тканей организма, вызывая болезненные состояния. Это происходит, когда иммунные комплексы, не выведенные вовремя из циркуляции, фиксируются в тканях или механически задерживаются в узких капиллярах почек, глаз, кожи, других органов. В результате ИК вызывает повреждение тканей самой разной локализации: кожи, суставов, почек, мышц и др. Болезни иммунных комплексов носят системный характер, например, сывороточная болезнь, системная красная волчанка.

Сывороточная болезнь

Сывороточная болезнь – это реакция, возникающая при разовом парентеральном введении больших доз сыворотки (противостолбнячной, противодифтерийной) или других белковых препаратов. Обычно реакция возникает спустя 10–15 суток. Механизм сывороточной болезни связан с образованием антител против антигенов сыворотки, так как в данном случае вводился избыток антигена, который из организма быстро не выводится и вызывает образование антител. Когда накапливается достаточно антител, образуются комплексы «антиген – антитело», они оседают в стенке

сосудов, вызывая воспаление. Клинически это проявляется в виде отека кожи и слизистых оболочек, повышения температуры тела, отечности суставов, зуда кожи, в крови – лейкоцитоз, эозинофилия.

Профилактика сывороточной болезни – введение препаратов по способу Безредко.

Реакции гиперчувствительности IV типа

Тип IV – реакции гиперчувствительности замедленного типа – ГЗТ. В основе формирования ГЗТ лежит не гуморальный, а клеточный иммунный ответ организма на первый (сенсibiliзирующий) контакт с определенным антигеном. Это клеточно-опосредованная сенсibiliзация.

Чем отличается ГЗТ от ГНТ:

1. ГЗТ не связана с антителами, поэтому с сывороткой не переносится, но может быть перенесена с лимфоидными клетками.

2. Реакции развиваются не ранее 6–8 часов, максимум через 24–72 часа.

3. Гистологически при ГЗТ отек минимальный, но в основном мононуклеарная инфильтрация (лимфоциты, макрофаги, моноциты).

ГЗТ развивается при многих бактериальных инфекциях: туберкулезе, туляремии, бруцеллезе, сифилисе, вирусных инфекциях, гельминтозах, протозойных инфекциях. ГЗТ играет основную роль при реакции отторжения трансплантата, при борьбе организма со злокачественными клетками. ГЗТ лежит в основе лекарственной и профессиональной аллергии. В этом случае гаптены-красители, антибиотики, сульфаниламиды и другие лекарственные препараты, растительные яды комбинируются с белками организма, образуют полные антигены, на которые формируется ГЗТ. Результатом являются различные кожные поражения, колиты, пневмонии и т. д.

При первом контакте организма с антигеном-аллергеном развивается сенсibiliзация, которая связана с преимущественной пролиферацией Т-лимфоцитов, несущих специфические для данного антигена (аллергена) распознающие рецепторы. После этого в организме надолго сохраняется размножившийся клон сенсibiliзированных Т-лимфоцитов, вступающий в реакцию

с тем же антигеном при повторном попадании в организм. Основным следствием такого взаимодействия является пролиферация лимфоцитов с образованием молодых клеток-бластов и активация Т-эффекторов с усилением выработки и секреции клеточных медиаторов – лимфокинов. Различают лимфокины, активирующие другие лимфоциты и макрофаги, фактор хемотаксиса, фактор торможения миграции лимфоцитов, а также интерферон. Кроме того лимфоциты секретируют цитотоксины, повреждающие клетки-мишени. При действии медиаторов развивается местная воспалительная реакция. Она проявляется в скоплении макрофагов, в изменении проницаемости сосудов, активации фагоцитоза, местном накоплении антител, образовании гранулем, ограничивающих очаг инфекции.

При отсутствии ГЗТ наблюдается очень тяжелое течение бактериальных, вирусных инфекций, и даже живые вакцины могут вызвать тяжелый инфекционный процесс у людей с подавленной Т-системой. Однако при очень высокой ГЗТ может наблюдаться утяжеление специфического процесса, так как воспалительная реакция достигает такого уровня, когда она сама несет опасность для больного. Поэтому используют гипосенсибилизацию, хотя её труднее проводить, чем при ГНТ. В основе механизма гипосенсибилизации при ГЗТ лежит возрастание активности Т-супрессоров. При трансплантации тканей ГЗТ снижают путем воздействия ионизирующего облучения или иммунодепрессантов.

Примером аллергической реакции клеточного типа может служить проба на внутрикожное введение аллергена – туберкулина в инфицированный или вакцинированный организм. На месте введения туберкулина через 24–48 часов образуется мононуклеарный инфильтрат, величина которого зависит от степени сенсibilизации. Состояние ГЗТ можно также определить в реакциях (РБТЛ) бласттрансформации и РТМЛ (торможения миграции лейкоцитов).

Методика работы

Постановка опыта анафилактического шока на sensibilizированной морской свинке

Ввести sensibilizированной морской свинке внутрисердечно 1 мл лошадиной сыворотки, наблюдать картину шока.

Павшую свинку зафиксировать и вскрыть. Обратит внимание на раздутые легкие, сокращающееся сердце, несвернувшуюся кровь в камерах вскрытого сердца, перистальтику кишечника.

Контрольные вопросы

1. Понятие об аллергии. Типы аллергических реакций, формы их проявления.
2. Состояние sensibilizации и механизм формирования.
3. Виды аллергенов.
4. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ): гуморальный механизм развития, факторы, виды.
5. Анафилаксия, механизм развития. Клиническая картина анафилаксии у животных и человека.
6. Десенсибилизация. Метод Безредко.
7. Что такое атопия? Атопические болезни.
8. Сывороточная болезнь, проявление, механизм развития, профилактика.
9. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ): механизм развития, факторы, виды (инфекционная, контактная, лекарственная).
10. Механизм инфекционной аллергии, в основе которой лежит ГЗТ.
11. Методы выявления инфекционной аллергии *in vivo* – аллергические пробы и *in vitro* – миграции лейкоцитов (РТМЛ).

Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний

План

1. Иммунобиологические препараты: их классификация, области применения.

2. Биопрепараты для лечения и профилактики:
 - А. Вакцины.
 - Б. Диагностикумы.
 - В. Сыворотки и иммуноглобулины.
 - Г. Моноклональные антитела.
 - Д. Аллергены для аллергических проб.

Теоретический блок

Под иммунопрофилактикой понимают воздействие на систему иммунитета с целью предупреждения инфекционного заболевания или другого патологического процесса (например, при иммунодефицитах), в котором участвует иммунная система. Иммунотерапия направлена на прекращение инфекционного или другого патологического процесса путем воздействия на иммунную систему или замещения ее функций (с помощью введения готовых антител).

По механизму действия различают активную иммунопрофилактику и иммунотерапию, когда вводят антигены (вакцины), иногда иммуномодуляторы, а иммунная система активно отвечает на введенный препарат, пассивную иммунопрофилактику и иммунотерапию, которая заключается во введении в организм готовых защитных факторов – антител в виде иммунных сывороток или иммуноглобулинов.

В основном иммунопрофилактика и иммунотерапия оказывают стимулирующее действие на иммунную систему, но иногда применяют и подавляющие препараты для угнетения иммунных реакций (например, при аллергии и аутоиммунных заболеваниях, при трансплантационном иммунитете). Чаще для этой цели применяют иммуномодуляторы – вещества химической или биологической природы, способные модулировать (угнетать, стимулировать) или регулировать иммунные реакции, воздействуя на иммунокомпетентные клетки и другие иммунные процессы.

А. Вакцины – биологические препараты, изготавливаемые из живых аттенуированных или инактивированных микробов, токсинов, микробных антигенов и используемые для создания

искусственного специфического активного иммунитета. В основном, вакцины применяют с профилактической целью, значительно реже – с лечебной (при хронических, затяжных инфекционных заболеваниях) целью. Вакцины, в соответствии с составом и техникой получения, делят на:

1. Живые вакцины: состоящие из аттенуированных, авирулентных штаммов или вариантов апатогенного вида микробов (из так называемых «вакцинных штаммов»).

2. Инактивированные вакцины:

а) *корпускулярные* (цельноклеточные и цельновирионные) из целостных микробов, инактивированных физическими или химическими факторами;

б) *химические* из наиболее активных антигенных компонентов, извлеченных из микробных клеток или вирионов с помощью различных физико-химических методик;

в) *анатоксины, полученные из бактериальных экзотоксинов*, обезвреженные длительным воздействием формалина при повышенной температуре.

3. Генно-инженерные вакцины, получаемые путем встраивания генов, контролирующих синтез нужных антигенных детерминант, в геном других непатогенных микробов.

Основные требования к вакцинным препаратам: высокая иммуногенность и остаточная вирулентность для аттенуированных штаммов, безвредность, ареактивность (отсутствие выраженных побочных реакций), гипоаллергенность (минимальное сенсibiliзирующее действие).

Многие современные вакцины не полностью отвечают этим требованиям, поэтому продолжается исследовательская работа по их совершенствованию и созданию принципиально новых вакцинных препаратов.

1. Живые вакцины готовят из вакцинных штаммов бактерий, риккетсий, вирусов, полученных различными методами селекции. Вакцинным штаммам присуща способность «приживаться» в организме человека или животного. При введении биопрепарата аттенуированные микробы благодаря сохранению остаточной ви-

рулентности размножаются на месте введения, проникают в лимфоузлы, попадают во внутреннюю среду организма. Возникает «вакцинная инфекция», по завершении которой организм приобретает иммунитет, по своей напряженности приближающийся к постинфекционному иммунитету.

К преимуществам живых вакцин относятся высокая иммуногенность (и, как следствие, длительное сохранение иммунитета), простота способа введения (как правило, однократное накожно, через рот, в аэрозоле). В то же время, живые вакцины очень чувствительны к нарушению режима хранения. После вакцинации не исключено развитие тяжелых осложнений (например, энцефалитов), есть опасность реверсии вакцинного штамма в вирулентный, поэтому необходим постоянный контроль.

Живые вакцины применяются: против бактериальных инфекций – туберкулезная BCG, сибиреязвенная СТИ, чумная EV, туляремиальная Гайского – Эльберта, бруцеллезная ВА-19; против вирусных инфекций: полиомиелитная, гриппозная, коревая, паротитная, против гепатита В, желтой лихорадки; против риккетсиозов – против Ку-лихорадки М-44 и сыпного тифа ЖКСВ-Е.

Подавляющее большинство живых вакцин выпускают в сухом виде лиофильно высушенными с добавлением различных стабилизаторов (например, в желатиново сахарозной среде), что способствует сохранению жизнеспособности вакцинного штамма.

Некоторые примеры живых вакцин:

Вакцина туберкулезная BCG из вакцинного штамма, полученного Кальметтом и Гереном путем 13-летнего пассирования туберкулезных бактерий бычьего типа (*Mycobacterium bovis*) на глицериново-картофельной среде с добавлением желчи. Вакцинный штамм является делеционным мутантом, лишенным воска D. Вакцина D выпускается для внутрикожного применения, содержит аттенуированный штамм микобактерий (БЦЖ-1), лиофильно высушенный в 1,5%-ном растворе натрия глютамината.

Вакцина сибиреязвенная СТИ (Гинзбург, Тамарин) получена методом селекции из споровой культуры бескапсульных вариантов *Bacillus anthracis*, выращенных на сывороточной среде. Вакцина выпускается для накожного (скарификационного) и подкожного

применения и содержит споры аттенуированного бескапсульного штамма СТИ1 в лиофилизированном виде.

Вакцина гриппозная аллантаоисная очищенная живая сухая (Жданов и др.) из вакцинных штаммов вирусов гриппа, аттенуированных путем пассажей на куриных эмбрионах. Вакцину получают из вирусосодержащей аллантаоисной жидкости куриного эмбриона, очищенной методом ультрацентрифугирования. Лиофилизированная вакцина выпускается в виде моно препаратов, содержащих вакцинные штаммы вирусов гриппа А (Н1N1), А (Н3N2) и В, вводится интраназально.

2. Инактивированные вакцины содержат микробные клетки или вирионы (корпускулярные и вирионные вакцины), извлеченные из них антигенные компоненты (химические вакцины) или обезвреженные экзотоксины (анатоксины). Для приготовления инактивированных вакцин используют, как правило, вирулентные микробы с полноценными антигенными свойствами, которые должны сохраниться после инактивирующего воздействия (нагреванием, УФ-светом, различными химическими веществами спиртом, формалином, фенолом и др.).

Инактивированные вакцины создают менее напряженный иммунитет, чем живые вакцины, требуется их 2–3-кратное введение, проведение повторных курсов иммунизации. Для увеличения иммуногенности в химические вакцины и анатоксины часто добавляют вещества-адьюванты гидрооксид алюминия, фосфат алюминия, полисахариды и др. Адьюванты создают «депо» антигена на месте введения, способствуют его более длительному сохранению в организме и более интенсивному антигенному воздействию; вакцины с адьювантами называются адсорбированными.

Примеры инактивированных корпускулярных вакцин, применяемых для профилактики:

Брюшнотифозная спиртовая сухая вакцина;

Холерная корпускулярная инактивированная вакцина сухая из убитых нагреванием или формалином холерных вибрионов сероваров Огава и Инаба;

Вакцина синегнойная поливалентная корпускулярная инактивированная жидкая, содержит 7 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* наиболее распространенных серогрупп, инактивированных эктерицидом;

Вакцина лептоспирозная жидкая, содержащая взвесь убитых нагреванием культур лептоспир нескольких серогрупп;

Вакцина антирабическая культуральная инактивированная (против бешенства) сухая из вакцинного штамма Внуково 32, выращенного в культуре клеток, инактивированного УФ-светом и очищенного;

Вакцина гриппозная инактивированная жидкая из вирусов гриппа А (H1N1), А (H3N2) и В, выращенных на куриных эмбрионах, инактивированных формалином и УФ светом, очищенная ультрацентрифугированием;

Вакцина против клещевого энцефалита культуральная инактивированная сухая из очищенной взвеси вируса в культуральной жидкости, зараженной вирусом (штамм «Софьин» или «205») культуры клеток; инактивирована формалином, лиофильно высушена.

Примеры инактивированных корпускулярных вакцин, применяемых для иммунотерапии:

Вакцина бруцеллезная лечебная жидкая из взвеси бруцелл (*Brucella melitensis* и *B. abortus*), убитых нагреванием;

Вакцина гонококковая инактивированная из 12 свежевыделенных штаммов от больных с разными клиническими формами гонореи;

Вакцина дизентерийная спиртовая Флекснера – Зонне, сухая;

Вакцина стафилококковая инактивированная, содержит взвесь из нескольких штаммов стафилококков, консервант фенол;

Герпетическая инактивированная сухая вакцина из вирусов герпеса простого типов I и II, выращенных в культуре фибробластов куриного эмбриона; инактивирована формалином, лиофилирована.

Инактивированные вакцины для лечения иногда готовят из штаммов возбудителей, выделенных от больных, (например, при

стафилококковых инфекциях, гонорее) это, так называемые, **ауто-вакцины**. *Химические вакцины* содержат антигенные комплексы микробов, в значительной степени очищенные от балластных веществ (иногда их называют субклеточными или субвирионными). Они менее токсичны, чем корпускулярные вакцины (цельноклеточные или цельновирионные), обладают меньшими аллергизирующими свойствами.

Примеры химических вакцин:

Вакцина брюшнотифозная Vi полисахаридная жидкая (вводится совместно с брюшнотифозной спиртовой корпускулярной вакциной или в виде самостоятельной вакцины);

Вакцина менингококковая групп А и С полисахаридная сухая из очищенных капсульных специфических полисахаридов менингококка;

Вакцина сыпнотифозная химическая сухая очищенная и концентрированная иммуногенная субстанция растворимого антигена риккетсий Провацека;

Вакцина стафилококковая сухая для иммунотерапии, содержит комплекс антигенов, извлеченных из инактивированных клеток стафилококков;

Холерная вакцина, содержащая О-антиген (сухая и жидкая), выделенный из надосадочной жидкости бульонной культуры холерного вибриона серовара Инаба, инактивированная формалином;

Вакцина гриппозная тривалентная (полимер-субъединичная) жидкая – высокоочищенный препарат, содержащий только поверхностные антигены вируса гриппа (гемагглютинин и нейраминидазу) трех подтипов. В состав вакцины входит полимерный иммуностимулятор полиоксидоний, обеспечивающий повышение иммуногенности и большую стабильность антигенов.

Вакцины-анатоксины получают из бактериальных экзотоксинов путем 3–5-недельного воздействия формалина (0,3–0,4%-ного) при температуре 37–40 °С. При совместном действии этих факторов экзотоксин теряет свою ядовитость, сохраняя антигенные и иммуногенные свойства. Полученные анатоксины подвергают очистке

от балластных веществ и сорбируют на гидроксиде алюминия. Очищенные адсорбированные анатоксины выпускают в жидком виде. Их применяют для создания антитоксического иммунитета против таких инфекций, как дифтерия, столбняк, газовая анаэробная инфекция, стафилококковая инфекция и другие, возбудители которых выделяют экзотоксины, играющие первостепенную роль в патогенезе заболеваний.

Примеры вакцин-анатоксинов:

Дифтерийный очищенный адсорбированный анатоксин (АД-анатоксин);

Столбнячный очищенный адсорбированный анатоксин (АС-анатоксин);

Адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин (АДС-анатоксин);

Анатоксины дифтерийный, столбнячный очищенные, адсорбированные с уменьшенным содержанием антигенов, жидкие (АД-М, АС-М, АДС-М);

Стафилококковый анатоксин нативный и очищенный адсорбированный;

Анатоксин синегнойной палочки адсорбированный жидкий;

Трианатоксин ботулинический очищенный адсорбированный (смесь очищенных ботулинических анатоксинов типов А, В и Е, сорбированных на гидроксиде алюминия).

Ассоциированные вакцины представляют собой сочетание различных типов вакцин и предназначены для одновременной иммунизации против разных инфекций. Они могут состоять из однородных препаратов (например, нескольких анатоксинов) или из различных типов вакцин. Компоненты ассоциированных вакцин должны быть взяты в дозировках, не создающих конкуренции, чтобы иммунитет формировался ко всем антигенам.

Примеры ассоциированных вакцин:

Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная (АКДС-вакцина) состоит из взвеси убитых коклюшных

бактерий (*Bordetella pertussis*) и очищенного дифтерийного и столбнячного анатоксинов, сорбированных на гидрооксиде алюминия;

Вакцина коревая, краснушная, паротитная живая сухая (КПК);

Вакцина поликомпонентная из антигенов условно-патогенных микроорганизмов сухая для иммунотерапии (в состав вакцины входят антигены, извлеченные из стафилококков, клебсиелл, протей и кишечной палочки).

3. Генноинженерные вакцины. Получение вакцин с использованием методов генетической инженерии – новый перспективный путь создания усовершенствованных биопрепаратов. Основной принцип получения таких вакцин – встраивание микробных генов, контролирующих синтез определенных антигенных детерминант, в геном других легко культивируемых клеток (например, в дрожжевые клетки, *E. coli*) и экспрессия этих генов, ведущая к накоплению нужных антигенных компонентов в больших количествах. Подобная вакцина создана для профилактики вирусного гепатита В.

Вакцина гепатита В рекомбинантная дрожжевая жидкая содержит сорбированный на гидрооксиде алюминия поверхностный антиген вируса гепатита В (НВs-антиген), выделенный из рекомбинантного штамма – продуцента *Saccharomyces cerevisiae*.

Другой вариант – получение векторных вакцин (например, на основе осповакцины), когда в вакцинный штамм включается ген, контролирующий образование антигенных детерминант других возбудителей. При вакцинации такой рекомбинантной вакциной создается иммунитет против двух инфекций. Например, получена ***рекомбинантная осповакцина с антигенами вируса бешенства, клещевого энцефалита*** и др.

В стадии разработки находятся методы получения полусинтетических и синтетических вакцин, а также вакцин на основе антиидиотипических антител.

Б. Диагностикумы – взвеси обезвреженных микроорганизмов или полученные из них растворимые антигены, используемые в качестве известных антигенов при постановке серологических

реакций с целью выявления специфических антител в исследуемых сыворотках. Корпускулярные диагностикумы – это стандартные препараты с определенным содержанием микробных тел, они длительно сохраняются и не представляют опасности для заражения. Такие диагностикумы получают из штаммов микробов с типичными свойствами, инактивированных нагреванием или, что чаще, воздействием различных химических веществ – формалина, фенола, этилового спирта, глицерина и др.

Бывают диагностикумы с полным набором антигенов микробной клетки и содержащие некоторые антигены (брюшно-тифозные О-, Н-, Vi-диагностикумы), а также монодиагностикумы, у которых имеются антигенные детерминанты одной специфичности (сальмонеллезные Н-диагностикумы: «а», «в», «с», «d» и др.).

Широко применяются эритроцитарные диагностикумы, приготовленные из формализованных эритроцитов с сорбированными на них растворенными антигенами различных микробов – это эритроцитарные антигенные диагностикумы. Существуют и антительные эритроцитарные диагностикумы с сорбированными на эритроцитах иммуноглобулинами (они выполняют функцию известных антител и используются для идентификации испытуемых антигенов). Носителями антигенов могут быть частицы латекса (латекс-диагностикумы) и другие инертные вещества.

Диагностикумы могут быть растворимыми и содержать дезинтегрированные микробы, тогда их обычно называют антигенами (например, специфический антиген из бледных трепонем, разрушенных ультразвуком). При получении растворимых антигенов применяют экстракцию, обработку ферментами, детергентами и другие воздействия, разрушающие микроорганизмы.

Диагностикумы (антигены) готовят из многих возбудителей кишечных инфекций, бруцелл, гонококков, туляреминых, коклюшных бактерий, хламидий, микоплазм, риккетсий и вирусов. Они участвуют в реакциях агглютинации, непрямой гемагглютинации, реакции связывания комплемента, реакции нейтрализации, иммуноферментном анализе, с помощью которых выявляют специфические антитела в исследуемых сыворотках людей и животных.

Некоторые примеры диагностикумов:

Паратифозный В-диагностикум;

Брюшнотифозный Н-диагностикум;

Брюшнотифозный О-диагностикум;

Эритроцитарный брюшнотифозный Vi-диагностикум.

В. Диагностические сыворотки. Иммунные сыворотки содержат известные антитела к микробам, токсинам, другим антигенам. В зависимости от того, каким антигеном была проведена иммунизация, они подразделяются на диагностические и лечебно-профилактические сыворотки.

Диагностические сыворотки содержат известные антитела, их используют в серологических реакциях с целью определения (идентификации) выделенного из организма возбудителя инфекционного заболевания или его токсина, а также для определения неизвестных антигенов непосредственно в исследуемом материале из организма больного (в крови, спинномозговой жидкости, моче и др.).

Диагностические сыворотки обычно получают путем многократной иммунизации кроликов (иногда и других животных) различными антигенами, взвесью микробов, токсинами, анатоксинами, чужеродными сывороточными белками и другими растворимыми антигенами.

Диагностические сыворотки выпускают в ампулах, они бывают жидкими и лиофильно высушенными. Кроме нативных сывороток готовят иммуноглобулины, концентрированные препараты антител с различными метками (флюоресцентными, ферментными, изотопными для радиоиммунного анализа).

Диагностические сыворотки подразделяются на агглютинирующие, преципитирующие, гемолитические, антитоксические и другие в зависимости от серологической реакции, в которой они участвуют.

Агглютинирующие сыворотки выпускаются в виде нативных, неадсорбированных и адсорбированных по методу Каstellани. Неадсорбированные (видовые) сыворотки обладают высоким титром (1:25000 и выше), но недостаточно специфичны. Видовые сыворотки содержат несколько антител, соответственно набору антигенов

бактериальных клеток, которыми проводилась иммунизация. Среди этих антигенов могут быть групповые, общие с антигенами других родственных видов бактерий. Поэтому иммунная видовая сыворотка может содержать групповые антитела, за счет которых она будет давать агглютинацию не только с гомологичными бактериями (которыми проводилась иммунизация), но и с гетерологичными родственными бактериями, имеющими общие групповые антигены. Групповая агглютинация наблюдается как в реакции агглютинации на стекле, так и при постановке развернутой реакции агглютинации в пробирках (в последнем случае она бывает положительной с меньшими разведениями сыворотки, чем специфическая реакция агглютинации с гомологичным антигеном). Особенно часто групповая агглютинация встречается у представителей рода *Salmonella*, к которым относятся возбудители брюшного тифа (*Salmonella typhi*) и паратифа В (*Salmonella paratyphi B*). Чтобы избежать групповой агглютинации, из нативных видовых сывороток получают адсорбированные монорецепторные сыворотки, пользуясь методом адсорбции антител по Каstellани. Для этой цели к видовой иммунной сыворотке добавляют густую взвесь гетерологичных родственных бактерий, содержащих такие групповые антигены, антитела против которых требуется извлечь из сыворотки. После инкубирования в термостате сыворотку центрифугируют, в результате чего образовавшиеся комплексы между групповыми антигенами и антителами оказываются в осадке и удаляются, а в жидкой части сыворотки остаются специфические антитела (к рецепторам обычно одной специфичности). Такая сыворотка называется монорецепторной адсорбированной агглютинирующей сывороткой. Адсорбированные сыворотки характеризуются строгой специфичностью, титры их обычно низкие (1:40–1:320), их применяют в реакции агглютинации на стекле, причем результат реакции считается окончательным (а не ориентировочным, как при реакции агглютинации на стекле с видовой неадсорбированной сывороткой).

Лечебно-профилактические сыворотки применяют для лечения (серотерапии) или экстренной профилактики многих инфекционных заболеваний (таблица 9). При этом создается искусственный

пассивный иммунитет, который возникает через несколько часов после введения иммунной сыворотки и исчезает через 2–3 недели. Поэтому серопрофилактику проводят только при непосредственной угрозе возникновения заболевания, особенно у детей.

Лечебно-профилактические сыворотки подразделяются на антитоксические и антимикробные, последние делятся на антибактериальные и противовирусные. Сыворотки получают путем гипериммунизации, т. е. многократной интенсивной иммунизацией крупных животных, чаще всего лошадей (от которых можно получить много крови для изготовления сыворотки) соответствующими антигенами-анатоксинами, бактериями, вирусами. Сыворотки, полученные от животных, для человека являются гетерологичными. Существуют и гомологичные сыворотки, получаемые от людей-доноров или из плацентарной крови (введенные в организм, они сохраняются в течение 4–5 недель).

Наибольшее практическое значение имеют антитоксические сыворотки, так как они являются единственным специфическим средством, способным нейтрализовать токсическое действие экзотоксинов в организме больного. Особенно эффективно раннее введение сыворотки, так как антитоксин способен нейтрализовать токсин, не связавшийся с клеткой-«мишенью».

Антитоксические сыворотки, полученные из крови лошадей, гипериммунизированных соответствующим анатоксином, подвергают концентрации и очистке методом «Диаферм», который включает высаливание альбуминов серноокислым аммонием, ферментативное расщепление неиммунных глобулинов и диализ. Полученную сыворотку титруют (обычно используя реакцию флоккуляции) для определения ее антитоксической активности, измеряемой в международных единицах (МЕ).

Антибактериальные сыворотки с развитием антибиотико- и химиотерапии почти утратили свое значение и применяются редко, при немногих инфекционных заболеваниях (например, при чуме, сибирской язве). Противовирусные сыворотки оказывают хороший эффект при раннем введении в конце инкубационного периода и в первые дни болезни.

В настоящее время из нативных иммунных сывороток (гетерологичных и гомологичных) готовят более совершенные концентрированные и очищенные препараты – **иммуноглобулины**. Их получают методом спиртоводного осаждения на холоде и другими способами.

Таблица 9 – Примеры типов сывороток и иммуноглобулинов

Сыворотки антитоксические, очищенные методом «Диаферм» (гетерологичные)	Противодифтерийная, противостолбнячная, противоботулинические: типы А, В, Е и др., противогангренозные: поливалентная, моновалентные – противоперфрин-генс и др.
Антитоксические иммуноглобулины (гомологичные)	Альфа-антитоксический, противостолбнячный
Антибактериальные иммуноглобулины (гетерологичные)	Противосибиреязвенный, противочумный, лептоспирозный
Антивирусные иммуноглобулины (гетерологичные)	Антирабический, против клещевого энцефалита
Антивирусные иммуноглобулины (гомологичные)	Нормальный человеческий (противокоревой), антирабический, противогриппозный, иммуноглобулин, титрованный на антитела к вирусу клещевого энцефалита (от переболевших людей)

Примечание. Предпочтительнее пользоваться гомологичными сывороточными препаратами, так как введение сыворотки животных, даже предварительно очищенной, нередко вызывает осложнения, обычно в виде сывороточной болезни (развивается гиперчувствительность немедленного типа). Во избежание этого, сыворотку необходимо вводить по методу Безредко.

Существует нормальный донорский или плацентарный иммуноглобулин, получаемый от здоровых неиммунизированных людей, который содержит антитела различной специфичности, приобретенные взрослыми людьми в течение жизни. Его применяют для терапии и экстренной профилактики кори, гепатита, коклюша, менингококковой инфекции и др.

Готовят также иммуноглобулины направленного действия, получаемые из сыворотки крови специально иммунизированных доноров. Эти препараты содержат высокий титр антител к соответствующему возбудителю и являются весьма эффективными при экстренной профилактике и терапии гриппа, клещевого энцефалита, стафилококковой инфекции, столбняка и др.

Г. Моноклональные антитела – это высокоспецифичные антитела, продуцируемые одним клоном антителообразующих клеток. Они однородны по своему составу и способны связываться только с одной детерминантой группой (эпитопом) антигена.

Этим они выгодно отличаются от менее специфичных и неоднородных антител, получаемых путем иммунизации антигенами животных. Неоднородность иммунных сывороток зависит от характера антигена, уровня иммунного ответа экспериментального животного, отличающегося у разных особей, и от того, что введенный антиген активирует различные клоны В-клеток, каждый из которых вырабатывает антитела с индивидуальными отличиями. В итоге полученная поликлональная сыворотка представляет собой смесь антител различных классов, отличающихся по специфичности и аффинности. (Аффинность – сила связывания активного центра антитела с антигенной детерминантой, зависящая от степени их сродства). Приготовление адсорбированных сывороток – сложный многоэтапный процесс, не устраняющий полностью эти недостатки.

Моноклональные антитела получают с помощью специальной гибридомной технологии, позволяющей нарабатывать их в неограниченном количестве. Для этой цели из селезенки иммунизированных определенным антигеном мышей выделяют антителообразующие клетки В-лимфоциты (короткоживущие). Соединяют эти В-лимфоциты с миеломными клетками, которые были выделены из мышинной опухоли и обладают способностью к непрерывному размножению в культуре клеток (но не способны вырабатывать антитела). Проводят слияние В-лимфоцитов и миеломных клеток, воздействуя полиэтиленгликолем, и получают гибридные клетки-гибридомы, обладающие свойствами обеих родительских клеток: способностью к антителообразованию и к непрерывному делению.

Клетки-гибридомы культивируют в специальной среде (где не могут размножаться исходные, негибридные клетки) и производят клонирование, т. е. получают различные клоны клеток путем размножения из одной исходной гибридомной антителообразующей клетки. Каждый клон содержит однородные гибридомные клетки, способные продуцировать идентичные антитела одной специфичности и способные связываться с единственной антигенной детерминантой, т. е. моноклональные антитела.

Обычно к вирусному, микробному и другим антигенам получают несколько моноклональных антител (так называемая панель моноклональных антител) к разным антигенным детерминантам исследуемого антигена. Кроме того, для серологической идентификации возбудителя получены моноклональные антитела к групповым, видовым, типовым антигенам. Широкое применение моноклональные антитела нашли в следующих серологических методах: иммуноферментном, иммунофлюоресцентном, радиоиммунологическом, иммуноблоттинге. Моноклональные антитела используются в диагностике многих вирусных, бактериальных инфекций и др.

В настоящее время разрабатываются методы применения моноклональных антител для иммунотерапии и иммунопрофилактики. Основная трудность в получении человеческих гибридом (подавляющее число гибридом было получено на основе слияния клеток мышей или крыс), а также в наличии проблем, связанных с очисткой моноклональных антител от балластных веществ.

Д. Инфекционные аллергены применяют для диагностики инфекционных заболеваний путем постановки кожно-аллергических проб. Это биопрепараты, содержащие антигены возбудителей и предназначенные для выявления состояния гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которое возникает при многих инфекционных заболеваниях.

При постановке кожно-аллергических проб (обычно на внутренней поверхности предплечья) аллерген вводят внутрикожно с помощью шприца или накожно путем втирания в скарифицированный участок кожи. Через 24–48–72 часа на месте введения

возникает воспалительная реакция с покраснением, образованием инфильтрата. Положительной считается интенсивная реакция с определенным размером инфильтрата для каждого аллергена.

Аллергические пробы обладают специфичностью, но нередко бывают положительными у переболевших и привитых.

Аллергены, используемые в диагностике инфекционных заболеваний, это стандартные препараты, выпускаемые промышленностью. Их готовят из очищенных фильтратов бульонных культур возбудителей (или вакцинных штаммов), иногда из взвесей убитых бактерий или из выделенных из них антигенов, белковых фракций.

Примеры инфекционных аллергенов:

Туберкулин PPD (Purified Protein Derivative) – сухой очищенный белок микобактерий туберкулеза;

Альт туберкулин Коха – концентрированный фильтрат бульонной культуры микобактерий туберкулеза (сгущенный до 1/10 объема) только для кожной пробы;

Бруцеллин – аллерген бруцеллезный жидкий для внутрикожного применения, раствор полисахаридно-белкового комплекса, полученный из вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 VA путем уксуснокислого гидролиза;

Антраксин – аллерген сибиреязвенный жидкий для внутрикожной пробы из вегетативных клеток сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ, освобожденных от балластных белков и подвергнутых слабому кислотному гидролизу;

Тулярин – аллерген туляремийный жидкий для внутрикожной пробы – взвесь убитых нагреванием бактерий туляремийного вакцинного штамма;

Актинолизат – фильтрат бульонной культуры лизированных штаммов актиномицет.

Контрольные вопросы

1. Что такое вакцины? Какие требования предъявляют к вакцинным препаратам?
2. Классификация вакцин, краткая характеристика каждого типа.

3. Какой принцип заложен в основу получения живых вакцин, какой ученый его предложил?

4. Что такое аттенуированный штамм, каким требованиям он должен отвечать, как взаимодействует с макроорганизмом?

5. Перечислите живые вакцины:

а) против бактериальных инфекций и риккетсиозов;

б) против вирусных инфекций.

6. Что представляет собой вакцина БЦЖ? Как получена живая гриппозная вакцина?

7. Преимущества и недостатки живых вакцин по сравнению с убитыми.

8. Что такое инактивированные вакцины, как их подразделяют?

9. Охарактеризуйте инактивированные корпускулярные вакцины, способы их инактивирования, приведите примеры.

10. Что представляют собой химические вакцины? Приведите примеры.

11. В каких случаях вакцины применяют для иммунотерапии, приведите примеры таких вакцин. Что такое аутовакцины?

12. Что представляют собой анатоксины? Их получение, применение, примеры.

13. Генноинженерные вакцины, принципы получения, пример такой вакцины.

14. Инфекционные аллергены, принцип их использования в диагностике инфекционных заболеваний.

15. Назовите и охарактеризуйте инфекционные аллергены, применяемые для постановки кожных проб (3–4 примера).

ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебно-исследовательская работа 13

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ СТАФИЛОКОККАМИ, СТРЕПТОКОККАМИ И ПНЕВМОКОККАМИ

План

1. Изучение схем микробиологической диагностики стафилококковых и стрептококковых инфекций.
2. Диагностические, профилактические и лечебные препараты.

Практическое задание и методика работы

1. Исследование на стафилококк.

Изучить морфологию и окраску стафилококков в гное и чистой культуре.

Гной посеять на ЖСА и поставить в термостат.

Внимательно просмотреть чашки с ростом стафилококков на ЖСА, обратить внимание на колонии с зоной помутнения (лецитиназа+) и золотистым пигментом. Приготовить из этих колоний мазок, высушить, фиксировать, окрасить по Граму, промикроскопировать и зарисовать.

Характерную колонию стафилококка с чашки ЖСА отсеять на скошенный агар для выделения чистой культуры.

На чашках с ростом стафилококка на кровяном агаре найти колонии с зоной гемолиза.

Изучить дифференциальные признаки стафилококков разных видов.

2. Исследование на стрептококк.

Изучить морфологию и дифференциальные признаки разных видов стрептококков.

Студентам, работающим за одним столом, сесть друг против друга, взять тампоном слизь из зева (с поверхности миндалин), произвести посев (у пламени спиртовки) на сахарный бульон.

Контрольные вопросы

1. Классификация стафилококков.
2. Морфология, культуральные свойства, биологические признаки стафилококков. Какие из них используют для идентификации стафилококков?
3. Какие токсины и ферменты патогенности образуют стафилококки и как их определить?
4. Какие заболевания вызывают стафилококки?
5. Какой материал берут от больных при стафилококковых заболеваниях различной локализации?
6. Какие микробиологические методы используют для диагностики стафилококковых заболеваний?
7. Как исследуют гной, как выделяют гемокультуру при стафилококковом сепсисе?
8. По каким признакам определяют патогенность выделенной чистой культуры стафилококка?
9. Специфическая профилактика и специфическая терапия стафилококковых заболеваний.
10. Как выбрать антибиотик для лечения заболеваний, вызванных стафилококками?
11. Механизмы формирования антибиотикорезистентности стафилококков.
12. Морфология, культуральные свойства, антигенная структура, токсинообразование стрептококков.
13. Классификация стрептококков по антигенной структуре, по характеру роста на кровяном агаре.
14. С помощью каких реакций можно определить групповую и типовую принадлежность стрептококков?
15. Какие заболевания вызывают стрептококки?
16. Как производят бактериологические исследования при различных стрептококковых заболеваниях?
17. Морфология и культуральные свойства, антигенная структура, токсинообразование пневмококков.
18. Классификация пневмококков по антигенной структуре.

19. На основании каких свойств можно отличить пневмококки от стрептококков?

20. Методы выделения пневмококков из патологического материала и их идентификация.

21. В каких случаях используют биологический метод выделения пневмококка и в чем он заключается?

Учебно-исследовательская работа 14

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ НЕЙССЕРИЯМИ, ХЛАМИДИЯМИ, МИКОПЛАЗМАМИ, ГАРДНЕРЕЛЛАМИ

План

1. Завершение диагностики стафило-стрептококковых инфекций.

2. Изучение схем микробиологической диагностики менингококковой, гонококковой, хламидиальной, микоплазменной, гарднереллезной инфекций.

3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты.

Практическое задание и методика работы

1. Приготовление мазков из чистой культуры стафилококков, окраска по Граму, микроскопия.

2. Просмотр предыдущих посевов слизи из зева на сахарном бульоне. Обратит внимание на характерный придонно-пристеночный рост стрептококков. Стерильной пастеровской пипеткой набрать осадок со дна пробирки, приготовить мазок, окрасить по Граму и промикроскопировать.

3. С целью диагностики менингококкового назофарингита или при обследовании на носительство менингококков с помощью шпателя, придерживая корень языка, с задней стенки глотки берут слизь тампоном, согнутым под углом 110–120°. Слизь засевают на сывороточный агар с ристомицином.

4. Изучить морфологию нейссерий в чистой культуре и в патологическом материале.
5. Изучить культуральные свойства патогенных нейссерий.
6. Отдифференцировать патогенные менингококки от сапрофитных нейссерий.
7. Изучить морфологические признаки хламидий и гарднерелл.
8. Изучить рост микоплазм на питательной среде.

Контрольные вопросы

1. Морфология, культуральные свойства, антигенная структура, токсинообразование менингококков.
2. Какие заболевания вызывают менингококки? Источники и пути распространения менингококковой инфекции? Патогенез заболевания.
3. Какой материал исследуют при разных формах менингококковой инфекции?
4. Опишите морфологические особенности менингококков при бактериоскопическом исследовании ликвора?
5. Как произвести бактериологическое исследование менингококковой инфекции и дифференциацию с непатогенными нейссериями? Как определить серологический вариант менингококков?
6. Патогенетические особенности и характер иммунитета при менингите.
7. Какие препараты используют для профилактики и лечения менингококковой инфекции?
8. Морфология, культуральные свойства, антигенная структура, токсинообразование гонококков.
9. Источники инфекции, пути распространения, механизмы развития гонококковых инфекций (гонореи, бленнореи, артрита).
10. Какой метод применяется преимущественно при микробиологической диагностике острой гонореи и его результат?
11. Какие морфологические особенности гонококков при бактериоскопическом исследовании гноя имеют диагностическое значение?
12. В каких случаях применяются реакции РИФ, РСК, ПЦР при гонорее?

13. Характер иммунитета при гонорее.
14. Профилактика бленнореи у новорожденных.
15. Получение и применение гоновакцины.
16. Хламидии, их морфологические и биологические свойства, особенности репродукции, культуральные свойства.
17. Какие заболевания вызывают хламидии? Источники и пути распространения хламидийной инфекции? Патогенез заболеваний, лабораторная диагностика.
18. Какие препараты используют для лечения хламидийных инфекций. Какова профилактика этих заболеваний?
19. Морфология, культуральные свойства, антигенная структура микоплазм.
20. Источники инфекции, пути распространения, механизмы развития микоплазменных инфекций, лабораторная диагностика.
21. Какие реакции применяют для экспресс-диагностики хламидийных и микоплазменных инфекций?
22. Лечение и профилактика микоплазменных инфекций.
23. Гарднереллы. Морфологические, биологические свойства, лабораторная диагностика, лечение, профилактика.

Учебно-исследовательская работа 15

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ПАРАКОКЛЮША

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, паракоклюша.
2. Бактериоскопическое, бактериологическое исследование при дифтерии.
3. Бактериологическое и серологическое исследование при коклюше, паракоклюше.
4. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при дифтерии, коклюше, паракоклюше.

Практическое задание и методика работы

Фиксированные мазки из культуры дифтерийных палочек окрасить:

- один – по Леффлеру (щелочным раствором метиленовой синей 3–5 мин), после смыть краску, высушить, микрофотографировать, зарисовать;
- второй мазок окрасить по Нейссеру: нанести уксуснокислую синьку Нейссера на 1 мин, затем промыть водой, нанести раствор Люголя на 20–30 сек, после чего нанести раствор везувина на 10–15 сек, смыть краску, высушить, микрофотографировать, зарисовать.

2. Изучение посевов слизи из носоглотки на носительство коринебактерий. На предметное стекло нанести стерильной петлей каплю физраствора. Приготовить мазок из культуры на свернутой сыворотке, высушить, фиксировать жаром, окрасить, микрофотографировать. Изучить морфологию, характер роста, определение токсигенности дифтерийных палочек.

3. Диагностика коклюша. Для посева методом «кашлевых пластинок» материал забирают следующим образом: перед ртом больного на расстоянии 4–8 см помещают чашку с питательной средой (КУА или глицерино-картофельно-кровоной агар). Больной должен покашлять на поверхность питательной среды.

Для взятия материала с задней стенки глотки используют загнутый под углом 110–120° тампон (корень языка придерживают шпатель). Посев производят на КУА с пенициллином.

4. Изучить морфологию, характер роста, дифференциацию бордетелл.

Контрольные вопросы

1. Коринебактерии дифтерии: морфология, культуральные, биохимические свойства, токсинообразование, лизогения.

2. Свойства токсина дифтерийной палочки. Как определить токсигенность дифтерийных бактерий?

3. Локализация дифтерийных бактерий в организме человека и особенности патогенеза дифтерии.

4. Как проводится микробиологическое исследование при дифтерии?
5. На основании каких признаков идентифицируют типы дифтерийных бактерий и дифференцируют с дифтероидами?
6. Особенности иммунитета при дифтерии и методы его оценки (реакция Шика).
7. Что собой представляет дифтерийная вакцина?
8. Препараты для специфической профилактики и терапии, дифтерии, их получение и применение.
9. Морфология, культуральные свойства, антигенная структура, токсинообразование бордетелл.
10. Особенности патогенеза и иммунитета при коклюше и паракоклюше.
11. Дифференциация бордетелл коклюша и паракоклюша.
12. Лабораторная диагностика коклюша и паракоклюша: бактериологический и серологический методы.
13. Препараты для лечения и специфической профилактики коклюша.

Учебно-исследовательская работа 16

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА, ПРОКАЗЫ, АКТИНОМИКОЗА

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики туберкулеза, проказы, актиномикоза.
2. Бактериоскопический, бактериологический, биологический, аллергический методы исследования этих инфекций.
3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты.

Практическое задание и методика работы

1. Приготовить мазок из мокроты и окрасить по Цилю – Нильсену. Микроскопировать, зарисовать препарат.
2. Для посева 1–2 мл мокроты растирают в ступке с 3 мл 5%-ной серной кислоты, переливают в пробирку и встряхивают 3 мин. Мате-

риал нейтрализуют щелочью. Образовавшуюся пену втирают петлей в поверхность яичной среды. После чего материал центрифугируют, осадок сеют в те же пробирки со средой Левенштейна – Йенсена.

3. Изучить характер роста на питательных средах возбудителей туберкулеза и актиномицетов.

Контрольные вопросы

1. Современная классификация микобактерий.
2. Назовите атипичные микобактерии и их роль в патологии человека.
3. Назовите возбудителей туберкулеза человека. Их морфология и культивирование.
4. Антигенная структура микобактерий. Роль туберкулопротеинов в развитии гиперчувствительности замедленного типа (ГЧЗТ).
5. Пути заражения и особенности патогенеза туберкулеза.
6. Особенности иммунитета при туберкулезе.
7. Какие способы микроскопии применяются при бактериоскопической диагностике туберкулеза? В чем заключается метод обогащения?
8. Как проводится бактериологическое исследование при туберкулезе?
9. Как проводится ускоренная бактериологическая диагностика туберкулеза?
10. Какова природа туберкулина, его значение и применение. Что такое PPD? Методы выявления ГЧЗТ при туберкулезе.
11. Какая вакцина используется для активной профилактики туберкулеза? Кем и как она была получена?
12. Основные признаки возбудителя проказы.
13. Источники, пути передачи, патогенез проказы. Методы лабораторной диагностики проказы.
14. Актиномицеты, морфология, культивирование, антигенная структура.
15. Источники, пути передачи и патогенез заболевания человека актиномикозом.
16. Методы лабораторной диагностики актиномикоза.

Учебно-теоретическая работа 17

Коллоквиум 2 по разделу: ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС. КОККОВЫЕ И ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ (Тестовый контроль, собеседование, ситуационные задачи)

Контрольные вопросы

1. Понятие об инфекции и инфекционном процессе. Условия возникновения инфекционного процесса.
2. Стадии развития и характерные признаки инфекционной болезни.
3. Формы инфекций. Понятие о бактериемии, токсинемии, сепсисе, септикопиемии.
4. Патогенность и вирулентность бактерий. Факторы патогенности. Единицы измерения вирулентности бактерий.
5. Токсины бактерий, их природа, свойства, получение.
6. Анатоксины. Получение. Очистка. Титрование. Применение.
7. Роль окружающей среды и социального фактора в развитии инфекционного процесса.
8. Стафилококки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых стафилококками. Специфическая профилактика и лечение.
9. Стрептококки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций. Лечение и профилактика.
10. Пневмококки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
11. Менингококки. Таксономия. Характеристика. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
12. Гонококки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика гонореи, бленнореи. Лечение и профилактика.

13. Гарднереллы. Морфологические, биологические свойства: Лабораторная диагностика. Лечение и профилактика

14. Хламидии их биологические свойства, культивирование, роль в патологии человека, принципы лабораторной диагностики заболеваний, лечение, профилактика.

15. Микоплазмы их биологические свойства, культивирование, роль в патологии человека, принципы лабораторной диагностики заболеваний, лечение, профилактика.

16. Возбудители дифтерии. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Условно-патогенные коринебактерии. Микробиологическая диагностика дифтерии. Выявление антитоксического иммунитета. Специфическая профилактика и лечение.

17. Возбудители коклюша и паракоклюша. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

18. Возбудители туберкулеза, классификация микобактерий. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика туберкулеза. Специфическая профилактика и лечение.

19. Микобактерии лепры. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.

20. Актиномицеты. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

Билет 1

1. Стафилококки: морфология, культуральные свойства, токсины и ферменты патогенности, способы их определения.

2. Патогенез первичного, диссеминированного и вторичного туберкулеза. Варианты бактериоскопического исследования мокроты больного туберкулезом.

3. Хламидии: классификация, морфология, биологические свойства. Эпидемиологическая характеристика хламидиоза, микробиологическая диагностика хламидиоза.

4. Реакция агглютинации, способ постановки. Ингредиенты для постановки реакции с целью определения вида микроба и антител в сыворотке крови больного.

Тесты

1. К микробиологическим методам диагностики бактериальных инфекций относятся:

1. Бактериоскопический, бактериологический.
2. Вирусоскопический, вирусологический.
3. Серологический, аллергический.
4. Морфологический, токсикологический.
5. Биологический, экспериментальный.

2. Для диагностики туберкулеза необходимо произвести:

1. Окраску мазка по Цилю – Нильсену.
2. Посев мокроты на среду Левенштейна – Йенсена.
3. Внутрикожную пробу с туберкулином.
4. Реакцию набухания капсулы.
5. Ускоренный метод Прайса.

3. Грамположительными кокками являются:

1. Пневмококки.
2. Менингококки.
3. Стрептококки.
4. Гонококки.
5. Хламидии.

4. Возникновение инфекции зависит от:

1. Реактивности макроорганизма.
2. Климатических условий.
3. Окружающей среды.
4. Вирулентности микроорганизма.
5. Антропометрических данных макроорганизма.

5. Дифтерийные палочки биовара *gravis* на среде Клауберга образуют колонии:

1. Бесцветные.
2. Серовато-черного цвета.
3. С радиальной исчерченностью.
4. Напоминающие «кружевной платочек».
5. Напоминающие «цветок маргаритки».

Билет 2

1. Стрептококки: морфология, культуральные свойства, токсины и ферменты патогенности. Классификация стрептококков по характеру гемолиза на кровяном агаре и по антигенной структуре.

2. Патогенез дифтерии, микробиологическая диагностика. Препараты для специфической профилактики и терапии. Как их получают, как применяют?

3. Инфекционный процесс и его характеристика.

4. Антигены: определение, основные свойства. Антигенное строение бактерий, вирусов, их практическое значение.

Тесты

1. Пути распространения патогенных микробов:

1. Парентеральный.
2. Лимфогенный.
3. Трансмиссивный.
4. Гематогенный.
5. Нейрогенный.

2. Стрептококки *ruogenes* и *pneumonia* отличаются:

1. Антигенной структурой.
2. Способностью образовывать цепочки.
3. Лизированием желчью.
4. Разложением инулина.
5. Ростом на среде с оптохином.

3. Введение сыворотки по методу Безредко используется для:

1. Создания активного иммунитета.
2. Пассивного иммунитета.
3. Предупреждения анафилактического шока.
4. Идентификации возбудителя.

5. Предупреждения гиперчувствительности замедленного типа.

4. Толстая серовато-белая пленка, тесно спаянная с подлежащей тканью, способная распространяться на нижележащие дыхательные пути и вызывать асфиксию, характерна для:

1. Туберкулеза.
2. Актиномикоза.
3. Коклюша.
4. Дифтерии.
5. Дизентерии.

5. Аллергическая диагностика туберкулеза заключается в обнаружении:

1. Антител в сыворотке крови больного.
2. R-типа колоний на среде Левенштейна – Йенсена.
3. Корд-фактора в мазке из мороты.
4. Гиперчувствительности замедленного типа к туберкулину.
5. Тинкториальных свойств возбудителя туберкулеза.

Билет 3

1. Менингококи: морфология, культуральные свойства, токсинообразование, антигенные варианты, способ их определения. Патогенез и клиническая картина различных форм менингококковой инфекции, их микробиологическая диагностика.

2. БЦЖ: что собой представляет, кем и как получена, для чего применяется? Проба Манту – назначение, методика постановки и учета

3. Актиномикоз: механизм и пути передачи инфекции, патогенез, лабораторная диагностика, препараты для терапии и профилактики.

4. Антитела: их природа, классификация свойства, функции. Цель и способы определения антител в сыворотке крови больных.

Тесты

1. Характерные признаки *Neisseria meningitidis*:

1. Диплококки бобовидной формы.
2. Крупные палочки с обрубленными концами.

3. Располагаются цепочкой.
 4. Располагаются внутриклеточно (незавершенный фагоцитоз).
 5. Грамотрицательные.
- 2. Для лечения гонококковой инфекции применяют:**
1. Поливалентную гоновакцину.
 2. Иммунную сыворотку.
 3. Антибиотики.
 4. Бактериофаг.
 5. Анатоксин.
- 3. Дифтерийные палочки биовара *gravis* на среде Клауберга образуют колонии:**
1. Бесцветные.
 2. Серовато-черного цвета.
 3. С радиальной исчерченностью.
 4. Напоминающие «кружевной платочек».
 5. Напоминающие «цветок маргаритки».
- 4. Генетическая детерминанта токсигенности дифтерийных палочек обусловлена:**
1. Капсулой.
 2. Плазмидой.
 3. Профагом.
 4. Спорой.
 5. Фимбриями.
- 5. Способность подавлять защитные силы организма называется:**
1. Инвазивность.
 2. Агрессивность.
 3. Адгезия.
 4. Колонизация.
 5. Токсигенность.

Билет 4

1. Проявления дифтерии в ротовой полости. Лабораторная диагностика, дифференциация коринебактерий и дифтероидов. Специфическая терапия и профилактика дифтерии.

2. Источники, пути передачи гонореи, бленнореи, патогенез и лабораторная диагностика этих заболеваний.

3. Бордетеллы: морфологические и биологические свойства. Эпидемиологическая характеристика, патогенез, клиническая картина коклюша.

4. Неспецифические гуморальные факторы защиты организма человека: лизоцим, комплемент, интерферон и др.

Тесты

1. Экзотоксины:

1. Липолисахаридной природы, связаны с телом микробной клетки.

2. Липополисахаридной природы, секретируются в окружающую среду.

3. Белковой природы, секретируются в окружающую среду.

4. Высокотоксичны, избирательно действуют на органы и ткани.

5. Термолабильны, под действием температуры и формалина переходят в анатоксин.

2. Туберкулезные палочки могут вызывать поражение:

1. Легких.

2. Слизистых ротовой полости.

3. Костей.

4. Почек.

5. Кожи.

3. Естественный активный иммунитет формируется в организме после:

1. Введения сыворотки.

2. Перенесения болезни.

3. Введения анатоксина.

4. Введения иммуноглобулина.

5. Антибиотикотерапии.

4. Для профилактики бленнореи применяют:

1. Гоновакцину.

2. Эритромициновую или тетрациклиновую мазь.

3. Бактериофаг.

4. Анатоксин.
5. Антитоксическую сыворотку.

5. Streptococcus pyogenes характеризуется:

1. Образованием экзотоксина.
2. Выраженной биохимической активностью.
3. Придонно-пристеночным ростом на сахарном бульоне.
4. Устойчивостью к пенициллину.
5. Мелкими колониями на кровяном агаре с прозрачной зоной гемолиза.

Билет 5

1. Микобактерии, их классификация. Возбудители туберкулеза: морфология, антигены, факторы патогенности, культуральные свойства. Ускоренный метод выращивания микобактерий туберкулеза.

2. Хламидии – возбудители урогенитального хламидиоза. Морфология соответственно циклам развития. Методы окраски и культивирования. Патогенез урогенитального хламидиоза, микробиологическая диагностика.

3. Воспалительные заболевания, вызываемые разными видами стрептококков. Способы забора исследуемого материала, в соответствии с заболеванием. Методы микробиологической диагностики.

4. Реакция преципитации: компоненты, способы постановки. Практическое применение.

Тесты

1. Аллергическая диагностика туберкулеза заключается в обнаружении:

1. Антител в сыворотке крови больного.
2. Кислотоустойчивых возбудителей туберкулеза по Цилю – Нильсену.
3. Характерных колоний на среде Левенштейна – Йенсена.
4. ГЗТ к туберкулину.
5. Корд-фактора при микроскопировании мокроты.

2. Токсигенность дифтерийных палочек определяют в реакции:

1. РСК Борде – Жангу.
2. РА Видаля.
3. РП по Илеку.
4. РП Асколи.
5. Кожно-аллергической Манту.

3. Микоплазмы:

1. Относятся к царству прокариот.
2. Имеют клеточную стенку.
3. Обладают полиморфизмом.
4. Изучают с помощью фазово-контрастного микроскопа.
5. Нуждаются в факторе роста – холестероле.

4. Пузырчатку новорожденных могут вызывать штаммы золотистого стафилококка, продуцирующие:

1. Плазмокоагулазу.
2. Лецитиназу.
3. Гемотоксины.
4. Энтеротоксины.
5. Эксфолиатины.

5. Инвазивность – это способность:

1. Подавлять защитные силы организма.
2. Прикрепляться к поверхности клеток и колонизировать их.
3. Проникать в подлежащие ткани.
4. Вызывать инфекционное заболевание.
5. Развивать иммунный ответ.

Билет 6

1. Пневмококки: морфология, свойства, эпидемиологическая характеристика, патогенез, лабораторная диагностика.

2. Заболевания, вызываемые гонококками. Патогенез и клинические проявления. Какие методы микробиологической диагностики позволят поставить окончательный диагноз острой и хронической гонорей? Какие ингредиенты необходимы для этого метода?

3. Патогенность и вирулентность бактерий, факторы вирулентности.

4. Лечение и специфическая профилактика дифтерии.

Тесты

1. Основные признаки, позволяющие дифференцировать Staphylococcus aureus от Staphylococcus epidermidis:

1. Форма клеток, расположение, окраска по Граму.
2. Наличие гемолизина, лецитиназы, плазмокоагулазы.
3. Подвижность и спорообразование.
4. Ферментация глюкозы и маннита в анаэробных условиях до кислоты.
5. Чувствительность к антибиотикам.

2. Для уретрита, вызванного хламидиями, характерно:

1. Передача воздушно-капельным путем.
2. Относится к венерическим заболеваниям.
3. Является причиной выкидышей, бесплодия.
4. По частоте возникновения занимает второе место после гонореи.
5. Не оставляет иммунитета, возможны реинфекция и суперинфекция.

3. Возбудители дифтерии зева:

1. Corynebacterium diphtheria.
2. Имеют полярно расположенные волютиновые зерна.
3. Окрашиваются по Леффлеру и Нейссеру.
4. Образуют фибринозно-некротическую пленку в месте входных ворот.
5. Образуют экзо-, цитотоксин, нейтрализуемые антитоксином.

4. Первичный туберкулез легких характеризуется формированием:

1. Воспалительных очагов (гранулем-бугорков) в зоне проникновения возбудителя.
2. Творожистого некроза, окруженного эпителиоидными клетками.
3. Гиперчувствительности замедленного типа.
4. Плотных инфильтратов, свищей, в гное которых содержатся друзы.
5. Очагов Гона.

5. Инвазивность это способность микроорганизма:

1. Подавлять защитные силы организма.
2. Вызывать инфекционную болезнь.
3. Приобретать антигены человека.
4. Проникать в подлежащие ткани.
5. Активизировать клеточную аденилатциклазу.

Билет 7

1. *Ureaplasma urealyticum*: свойства, патогенез заболеваний. Лабораторная диагностика.

2. Род микобактерии: общие свойства и отличие возбудителей. Лабораторная диагностика, лечение, профилактика проказы.

3. Заболевания, вызываемые менингококками. Способы забора исследуемого материала, соответственно заболеваниям, и методы их микробиологической диагностики. Тесты, позволяющие дифференцировать и идентифицировать возбудителя менингококковой инфекции.

4. Иммунная система организма человека, центральные и периферические органы, их функции.

Тесты

1. В зависимости от источника, различают инфекции:

1. Экзогенные.
2. Эндогенные.
3. Антропонозные.
4. Зоонозные.
5. Антропозоонозные.

2. Достоверность бактериологического исследования зависит от взятия материала:

1. В ограниченном количестве.
2. До начала антимикробной терапии.
3. Многократно на фоне антимикробной терапии.
4. С учетом периода инфекционного процесса.
5. С целью немедленного посева на соответствующие питательные среды.

3. Хламидии и микоплазмы:

1. Относятся к эукариотам.
2. Способны вызывать уретрит с симптомами похожими на гонококковый.
3. Являются комменсалами макроорганизма и не вызывают заболеваний.
4. Культивируются на курином эмбрионе.
5. Чувствительны к тетрациклину.

4. Основной тест, позволяющий отличить *Mycobacterium tuberculosis* от условно-патогенных микобактерий:

1. Окраска по Цилю – Нильсену.
2. Гидролиз миколовой кислоты.
3. Высокое содержание жировосковых веществ.
4. Образование никотиновой кислоты.
5. Окраска по Граму.

5. Тесты, позволяющие отдифференцировать 3 вида стафилококков:

1. Морфологические признаки.
2. Образование «радужного» венчика вокруг колоний на ЖСА.
3. Образование зоны гемолиза на кровяном агаре.
4. Синтез плазмокоагулазы.
5. Синтез лецитовителлазы.

Билет 8

1. Понятие об инфекции. Основные свойства микроорганизмов, определяющие возникновение инфекционного процесса, его специфичность и исход.

2. Микобактерии туберкулеза: морфологические, культуральные, антигенные, токсические свойства, признаки дифференциации.

3. Назовите возбудителей урогенитального микоплазмоза. Морфология, ультраструктура, тинкториальные и культуральные свойства микоплазм. Эпидемиология, клинические проявления, осложнения, микробиологическая диагностика, лечение и профилактика микоплазмоза.

4. Реакция агглютинации. Необходимые ингредиенты для определения: а) титра антител в сыворотке больного; б) вида возбудителя инфекционной болезни. Способы постановки, учет.

Тесты

1. Для хламидий характерно:

1. Цикличность в развитии.
2. Внутриклеточный паразитизм.
3. Являются сапрофитами.
4. Кислотоустойчивость.
5. Мутуалистические взаимоотношения с макроорганизмом.

2. Возбудители стафилококковой инфекции:

1. Обладают пантропизмом.
2. Имеют шаровидную форму, располагаются цепочкой.
3. Синтезируют ферменты патогенности и экзотоксин.
4. Вызывают эндогенную и экзогенную инфекцию.
5. Формируют устойчивость к антибиотикам.

3. Аллергическая проба Манту:

1. Производится внутривенно.
2. Основной метод туберкулинодиагностики при массовых обследованиях.
3. Служит для отбора контингента для ревакцинации.
4. Обуславливает антигенную мимикрию.
5. Выявляет начальную и локальную формы туберкулеза у детей и подростков.

4. Склеивание микробов соответствующей иммунной сывороткой называется реакцией:

1. Преципитации.
2. Гемолиза.
3. Бактериолиза.
4. Флокуляции.
5. Агглютинации.

5. Вакцина БЦЖ представляет собой живую ослабленную культуру *Mycobacterium*:

1. Tuberculosis.
2. Africanum.

3. Scrofulaceum.
4. Bovis.
5. Avium.

Билет 9

1. Классификация стрептококков по характеру гемолиза на кровяном агаре и антигенной структуре. Заболевания, вызываемые *Streptococcus pyogenes*. Микробиологическая диагностика ангины, скарлатины.

2. Особенности патогенеза первичного туберкулеза легких. Бактериологический метод диагностики туберкулеза легких: применяемые питательные среды, способы выделения чистой культуры из мокроты больного, идентификация выделенной чистой культуры. Продолжительность исследования.

3. Патогенез заболеваний, вызванных менингококками. Исследуемый материал, соответственно заболеваниям и методы микробиологической диагностики.

4. Лечение и профилактика коклюша.

Тесты

1. Для культивирования туберкулезных палочек применяются питательные среды:

1. Висмут-сульфит агар.
2. Кровяно-теллуритовый агар.
3. Среда Левенштейна – Йенсена.
4. Картофельно-глицериновая среда.
5. Молочно-солевой агар.

2. Стрептококки *pyogenes* и *pneumonia* отличаются:

1. Антигенной структурой.
2. Способностью образовывать цепочки.
3. Лизированием желчью.
4. Разложением инулина.
5. Ростом на среде с оптохином.

3. Для дифференциации коринебактерий дифтерии от дифтероидов используют определение:

1. Подвижности.
2. Капсулообразования.
3. Расположения волутиновых зерен.
4. Токсигенности.
5. Цистиназы.

4. Необходимые ингредиенты для определения антител в сыворотке крови больного:

1. Известная диагностическая, агглютинирующая иммунная сыворотка.
2. Сыворотка крови больного.
3. Физиологический раствор.
4. Диагностикум (известная взвесь миробов).
5. Чистая культура, выделенная исследуемого материала.

5. Микоплазмы:

1. Относятся к царству прокариот.
2. Имеют клеточную стенку.
3. Обладают полиморфизмом.
4. Изучают с помощью фазово-контрастного микроскопа.
5. Нуждаются в факторе роста – холестероле.

Билет 10

1. Возбудитель дифтерии, отличительные признаки типов колоний на теллуриново-красном агаре. От чего зависит их токсигенность и на какие органы действует дифтерийный экзотоксин? Как определить токсигенность чистой культуры дифтерийных палочек? Как получают препараты для специфической терапии и профилактики дифтерии?

2. Хламидии, формы существования, их морфологические и тинкториальные особенности, какие заболевания и осложнения они вызывают? Каким методом микробиологического исследования их обнаруживают?

3. Патогенез заболеваний, вызванных туберкулезными палочками. Методы микробиологической диагностики.

4. Лечение и профилактика стафилококковых инфекций.

Тесты

1. Наличие капсулы у *Streptococcus pneumoniae* можно обнаружить:

1. Заражением мышей.
2. При электронной микроскопии.
3. При окраске мазка из патологического материала.
4. В реакции набухания капсулы (нарисовать, как ставится реакция).
5. Окраской негативным способом по Бурри.

2. Образование S- и R-форм колоний дифтерийных коринебактерий, туберкулезных микобактерий происходит в результате:

1. Модификации.
2. Диссоциации.
3. Реактивации.
4. Трансформации.
5. Репликации.

3. Инвазивность – это способность:

1. Подавлять защитные силы организма.
2. Прикрепляться к поверхности клеток и колонизировать их.
3. Проникать в подлежащие ткани.
4. Вызывать инфекционное заболевание.
5. Развивать иммунный ответ.

4. Характерные признаки *Neisseria meningitidis*:

1. Диплококки бобовидной формы.
2. Крупные палочки с обрубленными концами.
3. Располагаются цепочкой.
4. Располагаются внутриклеточно (незавершенный фагоцитоз).
5. Грамотрицательные.

5. Для уретрита, вызванного хламидиями, характерно:

1. Передача воздушно-капельным путем.
2. Относится к венерическим заболеваниям.
3. Является причиной выкидышей, бесплодия.
4. По частоте возникновения занимает второе место после гонореи.
5. Не оставляет иммунитета, возможны реинфекция и суперинфекция.

Билет 11

1. Актиномикоз: возбудитель, характеристика. Патогенез заболевания, лабораторная диагностика: материал, методы, лечение, профилактика.

2. Заболевания, вызываемые стафилококками, факторы вирулентности стафилококка и методы их определения. Бактериологический метод диагностики стафилококкового сепсиса: применяемые питательные среды, идентификация выделенной культуры.

3. Серологический метод диагностики уретритов: гонококковых, микоплазменных, хламидиальных.

4. Препараты для лечения и профилактики дифтерии.

Тесты

1. Для хламидий характерно:

1. Цикличность в развитии.
2. Внутриклеточный паразитизм.
3. Являются сапрофитами.
4. Кислотоустойчивость.
5. Мутуалистические взаимоотношения с макроорганизмом.

2. Аллергическая диагностика туберкулеза заключается в обнаружении:

1. Антител в сыворотке крови больного.
2. Кислотоустойчивых возбудителей туберкулеза по Цилю – Нильсену.
3. Характерных колоний на среде Левенштейна – Йенсена.
4. ГЗТ к туберкулину.
5. Корд-фактора при микроскопировании мокроты.

3. Вакцина химическая содержит:

1. Микроорганизмы, инаktivированные прогреванием.
2. Сапрофиты, в геном которых введены гены патогенных бактерий.
3. Живые ослабленные бактерии.
4. Антигены, выделенные из бактерий действием химических веществ.
5. Синтезированные антигены.

4. Патогенные *Streptococcus pneumoniae* способны:

1. Вызывать воспаление дыхательных путей.
2. Образовывать *in vivo* капсулу.
3. На кровяном агаре вокруг колоний образовывать зону α -гемолиза.
4. В чистой культуре образовывать цепочку.
5. С иммунной типовой сывороткой давать набухание капсулы.

5. Естественный активный иммунитет формируется в организме после:

1. Введения сыворотки.
2. Перенесения болезни.
3. Введения анатоксина.
4. Введения иммуноглобулина.
5. Антибиотикотерапии.

Билет 12

1. Актиномицеты: морфология, культуральные, биологические свойства, эпидемиологическая характеристика.

2. Заболевания, вызываемые гонококками. Патогенез и клинические проявления. Какой метод микробиологической диагностики и на основании каких признаков позволяет поставить окончательный диагноз острой гонореи. Диагностика хронической гонореи (РСК).

3. Стрептококки: виды, морфологические, культуральные свойства. Лабораторная диагностика (материал, методы, дифференциация). Принципы лечения и профилактики стрептококковых инфекций.

4. Препараты для лечения и профилактики менингококковых заболеваний.

Тесты

1. Выберите ингредиенты, необходимые для постановки РСК с целью серологической диагностики хронической гонореи:

1. Сыворотка больного.
2. Гемолитическая сыворотка.

3. Гонококковый антиген.
4. Эритроциты барана.
5. Комплемент.

2. Экзотоксины:

1. Липолисахаридной природы, связаны с телом микробной клетки.
2. Липополисахаридной природы, секретируются в окружающую среду.
3. Белковой природы, секретируются в окружающую среду.
4. Высокотоксичны, избирательно действуют на органы и ткани.
5. Термолабильны, под действием температуры и формалина переходят в анатоксин.

3. Пузырчатку новорожденных могут вызывать штаммы золотистого стафилококка, продуцирующие:

1. Плазмокоагулазу.
2. Лецитиназу.
3. Гемотоксины.
4. Энтеротоксины.
5. Эксфолиатины.

4. Основные признаки, позволяющие дифференцировать *Staphylococcus aureus* от *Staphylococcus epidermidis*:

1. Форма клеток, расположение, окраска по Граму.
2. Наличие гемолизина, лецитиназы, плазмокоагулазы.
3. Подвижность и спорообразование.
4. Ферментация глюкозы и маннита в анаэробных условиях до кислоты.
5. Чувствительность к антибиотикам.

5. При эпидемическом цереброспинальном менингите производят забор ликвора:

1. После введения антибиотиков.
2. С соблюдением всех правил асептики.
3. Пункцией между 3–4 поясничными позвонками.
4. В условиях возможного охлаждения.
5. В центрифужные пробирки.

Билет 13

1. Токсины бактерий, их природа, свойства, получение.
2. Морфология и культуральные свойства пневмококков. Факторы патогенности. Патогенез пневмококковой пневмонии. Микробиологическая диагностика. Дифференциальные признаки *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes*.
3. Патогенез дифтерии. Особенности иммунитета, способы его оценки. Получение антитоксической сыворотки и метод введения больному. Механизм лечебного действия антитоксической сыворотки. Что собой представляет противодифтерийная вакцина, как ее получают, в ассоциации с какими вакцинами используют?
4. Методы диагностики хламидийной инфекции.

Тесты

1. Инвазивность – это способность микроорганизма:

1. Подавлять защитные силы организма.
2. Вызывать инфекционную болезнь.
3. Приобретать антигены человека.
4. Проникать в подлежащие ткани.
5. Активизировать клеточную аденилатциклазу.

2. Ферменты бактерий гиалуронидаза, коллагеназа, фибринолизин, лецитиназа, нейраминидаза обуславливают:

1. Агрессивность.
2. Адгезию.
3. Колонизацию.
4. Токсигенность.
5. Инвазивность.

3. Стрептококки *pyogenes* способны:

1. Образовывать цепочки в чистой культуре.
2. В патологическом материале образуют вокруг цепочек капсулу.
3. Имеют ланцетовидную форму и располагаются попарно.
4. Вызывают аутоиммунный процесс в предрасположенном организме.
5. Имеют гетероантигены с антигенами тканей макроорганизма.

4. Способность подавлять защитные силы организма называется:

1. Инвазивность.
2. Агрессивность.
3. Адгезия.
4. Колонизация.
5. Токсигенность.

5. Выберите набор ингредиентов, необходимых для реакции преципитации, с целью определения токсигенности дифтерийных палочек:

1. Чистые культуры коринебактерий, выделенные от нескольких больных.
2. Сыворотки крови больных дифтерией.
3. Полоски фильтровальной бумаги, пропитанные антитоксической противодифтерийной сывороткой.
4. Чашка Петри с питательной средой.
5. Физраствор.

Билет 14

1. Экспериментальная инфекция: цели, задачи, способы заражения животных. Бактериологическое исследование трупа животного, погибшего от экспериментальной инфекции. О какой форме генерализованной инфекции свидетельствует положительный результат посева крови и срезов органов мыши, погибшей от экспериментальной инфекции?

2. Назовите возбудителя скарлатины. Какой из факторов патогенности возбудителя играет основную роль в патогенезе скарлатины? Особенности иммунитета после перенесенного заболевания.

3. Перечислите методы микробиологической диагностики микоплазменной инфекции. Укажите исследуемый материал и цели исследования. Охарактеризуйте бактериологический метод, применяемые питательные среды, особенности идентификации выделенной чистой культуры.

4. Неспецифический клеточный фактор защиты организма человека. Классификация фагоцитов, стадии фагоцитоза. Методы их изучения и оценки.

Тесты

1. По выраженности клинических симптомов различают инфекции:

1. Явные.
2. Стертые.
3. Бессимптомные.
4. Типичные.
5. Атипичные.

2. Хламидии и микоплазмы:

1. Относятся к эукариотам.
2. Способны вызывать уретрит с симптомами похожими на гонококковый.
3. Являются комменсалами макроорганизма и не вызывают заболеваний.
4. Культивируются на курином эмбрионе.
5. Чувствительны к тетрациклину.

3. Толстая серовато-белая пленка, тесно спаянная с подлежащей тканью, способная распространяться на нижележащие дыхательные пути и вызывать асфиксию, характерна для:

1. Туберкулеза.
2. Актиномикоза.
3. Коклюша.
4. Дифтерии.
5. Дизентерии.

4. Противотуберкулезная вакцина:

1. Состоит из живых ослабленных *Mycobacterium tuberculosis*.
2. Создана Эльбертом и Гайским.
3. Состоит из убитых *Mycobacterium bovis*.
4. Создана Кальметом и Гереном.
5. Состоит из живых ослабленных *Mycobacterium bovis*.

5. Грамположительными кокками являются:

1. Пневмококки.
2. Менингококки.
3. Стрептококки.
4. Гонококки.
5. Хламидии.

Учебно-исследовательская работа 18

Тема: ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КАНДИДОЗА

План

1. Грибы, их характеристика, биологические свойства, значение.
2. Принцип классификации грибов.
3. Морфологические свойства фикомицетов (мукор), аскомицетов (аспергиллы, пенициллы), дейтеромицетов (кандида).
4. Возбудители кератомикозов.
5. Возбудители дерматомикозов.
6. Возбудители глубоких микозов.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию и культуральные свойства дрожжей, грибов кандида, мукор, аспергилл, пеницилл.
2. Для приготовления нативного препарата на предметное стекло нанести каплю исследуемого материала, закрыть покровным стеклом и микроскопировать.
3. Приготовить мазок из колонии Кандида альбиканс, окрасить простым методом, микроскопировать и зарисовать.
4. Изучить колонии различных видов грибов Кандида и характер псевдомицелия на питательных средах.

Контрольные вопросы

1. Таксономия грибов.
2. Морфологические свойства грибов.
3. Роль спор в жизнедеятельности грибов.
4. Гифы, мицелий, псевдомицелий, конидий, спорангий, хламидоспоры, аски?
5. Каковы морфологические отличия дрожжеподобных грибов от дрожжевых?
6. Классификация микозов.

7. Поверхностные кератомикозы: разноцветный лишай, пьедра.
8. Дерматомикозы: эпидермофития, микроспория, трихофития, фавус.
9. Возбудители грибковых респираторных инфекций: пневмоцистная пневмония, аспергиллез, пенициллез, мукороз, пневмомикотоксикозы.
10. Глубокие микозы: кокцидиоидоз, адиаスピромикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидоз.
11. Возбудители грибковых кишечных инфекций – микотоксикозов: эрготизм, афлотоксикоз.
12. Принцип диагностики поверхностных и глубоких микозов. Лечение, профилактика.
13. Оппортунистические микозы.
14. Классификация грибов рода кандиды.
15. Морфологические и биохимические особенности грибов рода кандиды.
16. Факторы, способствующие развитию кандидоза.
17. Общая характеристика инфекционного процесса, вызванного грибами кандиды.
18. Изучение схемы микробиологической диагностики кандидоза.
19. Микроскопические, бактериологические и серологические методы исследования при кандидозе.
20. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при кандидозах.

Учебно-исследовательская работа 19

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КОЛИ-ИНФЕКЦИЙ И ДИЗЕНТЕРИИ

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики коли-инфекций, дизентерии.
2. Бактериологическая и серологическая диагностика кишечных инфекций.

3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при коли-инфекциях и дизентерии.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию, культуральные свойства, биохимическую активность, кишечных палочек.

2. Прокаленной петлей набрать испражнения и произвести посев штрихами на поверхность среды Эндо в чашке.

3. Стерильный тампон смочить в среде Кесслера и взять смыв с поверхности кисти рук и особенно в межпальцевых промежутках. Погрузить тампон в среду Кесслера.

4. Изолированную, бесцветную колонию на среде Эндо, пересеять на среду Ресселя. Посев делать на поверхность среды зигзагом и уколом в столбик.

5. Изучить морфологию, культуральные и биохимические свойства шигелл.

Контрольные вопросы

1. Современная классификация семейства энтеробактерий.

2. Морфологические, культуральные, токсические свойства эшерихий.

3. Условно-патогенные эшерихии, физиологическая роль в кишечнике человека и санитарно-показательное значение.

4. Какие биохимические свойства используются для идентификации эшерихий?

5. Антигены энтеробактерий. Их химическая природа и локализация в бактериальных клетках.

6. По каким признакам дифференцируют условно-патогенные эшерихии от энтеропатогенных?

7. Какие серологические группы эшерихий вызывают острые кишечные заболевания и эширехиозы?

8. Как проводится бактериологическая диагностика заболеваний, вызванных эшерихиями?

9. Современная международная классификация шигелл. Морфология, культуральные свойства и токсинообразование. Антигены шигелл.

10. Источники инфекции, пути распространения, патогенез и основные клинические симптомы дизентерии.

11. Как проводится микробиологическая диагностика дизентерии?

12. Лечение и специфическая профилактика дизентерии.

Учебно-исследовательская работа 20

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТИФО-ПАРАТИФОВ И ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики тифо-паратифозных, сальмонеллезных инфекций.

2. Бактериологические и серологические методы исследования при кишечных инфекциях, вызванных сальмонеллами.

3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при тифо-паратифах и сальмонеллезе.

Практическое задание и методика работы

1. На предметном стекле приготовить мазок из выделенной чистой культуры на среде Ресселя от больного ОКЗ, подсушить, зафиксировать жаром, окрасить по Граму и микроскопировать.

2. Учесть предыдущие посева смыва с рук на среде Кесслера и сделать пересев осадка на среду Эндо.

3. Нанести каплю агглютинирующей сальмонеллезной сыворотки на предметное стекло. Прокаленной и остуженной петлей набрать культуру со среды Ресселя и эмульгировать в капле агглютинирующей сыворотки. Стекло покачивать и наблюдать появление хлопьев в капле.

4. Для постановки реакции Видаля дано:

а) сыворотка больного 1:50;

б) физиологический раствор;

в) диагностикум – сальмонеллы брюшного тифа и паратифов

А, В. Ставить реакцию по этапам схемы. После постановки пробир-

ки встряхнуть и штативы поместить в термостат. Учет результата реакции через сутки. Для учета реакции Видаля нужно определить титр реакции агглютинации – то наибольшее разведение сыворотки, где наблюдается агглютинация.

Реакция считается положительной в разведении не меньше 1:200, если наступит просветление жидкости, а на дне образуется осадок в виде хлопьев.

5. Определить вид микроба из семейства энтеробактерий по биохимическим свойствам.

Контрольные вопросы

1. Назовите возбудителей тифо-паратифозных заболеваний. Охарактеризуйте морфологические, культуральные свойства, токсинообразование, антигенную структуру.

2. Источники, пути заражения, патогенез и характер иммунитета тифо-паратифозных заболеваний.

3. В какие периоды заболевания выделяют гемокультуру, копрокультуру, уринокультуру?

4. Элективные и дифференциально-диагностические среды, применяемые при диагностике кишечных инфекций. Их состав и особенности применения.

5. По каким признакам дифференцируют сальмонеллы брюшного тифа и паратифов?

6. Серологические реакции, используемые для серодиагностики брюшного тифа и паратифов, техника их постановки.

7. Что такое диагностикум и для чего он используется?

8. Как проводится фаготипирование сальмонелл? Практическое значение этого метода.

9. Специфическая профилактика тифо-паратифозных заболеваний, их лечение.

10. Назовите возбудителей сальмонеллез. Какие признаки позволяют дифференцировать возбудителей сальмонеллез от сальмонелл тифо-паратифов?

11. Серологическая классификация сальмонелл.

12. Источники и пути заражения сальмонеллезом. Что значит эндогенное и экзогенное инфицирование продуктов питания?

13. Патогенез сальмонеллезов.
14. Как проводится микробиологическая диагностика сальмонеллезов?
15. Лечение и профилактика сальмонеллезов.

Учебно-исследовательская работа 21

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ХОЛЕРЫ

Контрольная работа 1

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики холеры.
2. Диагностика холеры.
3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при холере.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить результаты посевов смывов с рук (пересев со среды Кесслера) на среде Эндо. Приготовить мазки из колоний, окрасить по Граму.

2. Прокаленной петлей набрать материал от больного холерой (испражнения) и произвести посев:

а) в пробирку с 1%-ной пептонной водой;

б) штрихом на поверхность щелочного агара в чашку.

Изучить морфологию, культуральные, биохимические, антигенные свойства, фаготипирование холерных вибрионов.

Контрольные вопросы

1. Классификация вибрионов.
2. Морфологические, культуральные и биохимические свойства холерных вибрионов.
3. Биовары: классический холерный вибрион, вибрион Эль-Тор, вибрион O 139 их серологические варианты. Токсины.
4. Патогенез холеры.
5. Правила взятия, транспортировки заразного материала и режим работы в очаге, стационаре и в лабораториях.

6. Классический и ускоренные методы лабораторной диагностики холеры.
7. Дифференциация холерных и холероподобных вибрионов.
8. Идентификация вибрионов классического холерного, Эль-Тор, O-139.
9. Препараты для лечения и специфической профилактики холеры.

Контрольная работа 2

по разделу «Кишечные инфекции» (Собеседование, тестовый контроль, ситуационные задачи)

1. Возбудители коли-инфекций. Таксономия. Характеристика. Роль кишечной палочки в норме и патологии. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика коли-инфекций. Лечение, профилактика.

2. Возбудители шигеллёза. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

3. Возбудители брюшного тифа и паратифов. Таксономия и характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

4. Возбудители сальмонеллезов. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологический диагноз сальмонеллезов. Лечение, профилактика.

5. Возбудители холеры. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

6. Возбудители кишечного иерсиниоза. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Лечение, профилактика.

7. Возбудители протейной инфекции. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Лечение, профилактика.

8. Возбудители клебсиеллезной инфекции. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Лечение, профилактика.

9. Синегнойная инфекция. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика. Лечение, профилактика.

10. Кампилобактерии. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика энтерита. Лечение, профилактика.

11. Хеликобактерии. Таксономия. Характеристика. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Микробиологическая диагностика язвы желудка и 12-перстной кишки. Лечение, профилактика.

Билет 1

1. Морфология, токсигенные, культуральные свойства эшерихий, их биохимическая активность на среде Гисса и МПБ.

2. Патогенез брюшного тифа и паратифов. Методы микробиологической диагностики соответственно периодам заболевания. Перечислите необходимые питательные среды для выделения гемокультуры, копрокультуры, уринокультуры.

3. Дифференциальные признаки холерных и холероподобных вибрионов.

4. Специфическая профилактика холеры.

Тесты

1. Источник инфекции при дизентерии:

1. Больные.
2. Здоровые носители.
3. Грызуны.
4. Реконвалесценты.
5. Мелкий рогатый скот.

2. Бактериальную дизентерию вызывают:

1. *Shigella flexneri*.
2. *Shigella sonnei*.
3. *Entamoeba histolytica*.

4. Entamoeba coli
5. Shigella boydii.

3. Характер стула при дизентерии:

1. Рисовый отвар.
2. Наличие слизи и крови.
3. Ректальный плевков.
4. Диарея.
5. Рыбный запах.

4. Шигеллы отличаются от сальмонелл по:

1. Морфологии.
2. Подвижности.
3. Антигенам.
4. Ферментативной активности.
5. Культуральным свойствам.

5. Препараты для специфической профилактики брюшно-го тифа:

1. Химическая вакцина.
2. Спиртовая вакцина, обогащенная Vi-антигеном.
3. Живая вакцина.
4. Анатоксин.
5. Иммуноглобулин.

Билет 2

1. Условно-патогенные эшерихии, физиологическая роль в кишечнике человека. Почему их называют условно-патогенными? По каким признакам дифференцируют условно-патогенные эшерихии от энтеропатогенных (нарисовать схему постановки этой реакции).

2. Назовите возбудителей сальмонеллезов. Источники и пути заражения сальмонеллезами. Что значит эндогенное и экзогенное (прижизненное или постмортальное) инфицирование продуктов питания?

3. Что такое диагностикум и для чего он используется?

4. Диагностические препараты, применяемые при тифо-паратифозных заболеваниях. Как их получают, с какой целью применяют?

Тесты

1. Морфологические признаки, характерные для кишечных палочек:

1. Наличие жгутиков.
2. Капсулообразование.
3. Спорообразование.
4. Закругленные концы.
5. Расположение цепочкой.

2. Заболевания, вызываемые условно-патогенными эшерихиями:

1. Сепсис.
2. Холецистит.
3. Пиелит.
4. Перитонит.
5. Коли-энтерит.

3. Для тифо-паратифозных заболеваний характерно:

1. Фекально-оральный механизм заражения.
2. Сезонность заболевания.
3. Хроническое течение.
4. Источники инфекции – больные и бактерионосители.
5. Зоонозные инфекции.

4. Дифференциальные признаки сальмонелл брюшного тифа, паратифа А и В:

1. Морфологические.
2. Тинкториальные.
3. Антигенные.
4. Биохимические.
5. Культуральные.

5. Для дизентерии характерно:

1. Поражение толстого кишечника.
2. Тенезмы.
3. Присутствие слизи и крови в испражнениях.
4. Фекально-оральный механизм передачи.
5. Поражение тонкого кишечника.

Билет 3

1. Антигены энтеробактерий. Их химическая природа и локализация в бактериальных клетках. Назовите O-сероварианты энтеропатогенных эшерихий и какие заболевания они вызывают.

2. Этапы бактериологического метода диагностики эшерихиозов. Какая реакция позволяет дифференцировать энтеропатогенные эшерихии и какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции?

3. Современная международная классификация шигелл.

4. Патогенез и клиническая картина дизентерии.

Тесты

1. Холерные вибрионы на щелочном агаре образуют колонии:

1. Гладкие.
2. Прозрачные.
3. С ровными краями.
4. С голубоватым оттенком.
5. С шероховатой поверхностью.

2. Отбор колоний патогенных эшерихий со среды Эндо производят на основании:

1. Реакции агглютинации.
2. Характера колоний.
3. Пробы на оксидазу.
4. Микроскопии мазков.
5. Определения подвижности.

3. Признаки дифференциации кишечных палочек и сальмонелл:

1. Морфологические.
2. Тинкториальные.
3. Биохимические.
4. Антигенные.
5. Культуральные.

4. Ранняя диагностика брюшного тифа, паратифа А и В проводится на основании:

1. Заражения животных.
2. Выделения копрокультуры.

3. Серологического метода.
4. Выделения гемокультуры.
5. Кожно-аллергической пробы.

5. Питательные среды, используемые при диагностике дизентерии:

1. Плоскирева.
2. Ресселя.
3. Селенитовый бульон.
4. Левина.
5. Висмут-сульфит агар.

Билет 4

1. Морфологические, культуральные, токсигенные и биохимические свойства холерных вибрионов. Назовите патогенные виды, входящие в O1 группу и их серологические варианты, способы их определения.

2. Назовите возбудителей сальмонеллезов. Источники инфекции, пути передачи, патогенез. Этапы бактериологического метода исследования.

3. Специфическая профилактика тифо-паратифозных заболеваний.

4. Иммунные диагностические тифо-паратифозные сыворотки. Как их получают, для чего применяют?

Тесты

1. Возбудители брюшного тифа и паратифов относятся к роду:

1. Шигелла.
2. Сальмонелла.
3. Эшерихия.
4. Клебсиелла.
5. Иерсиния.

2. Период тифо-паратифозной инфекции-паренхиматозная диффузия соответствует:

1. Началу болезни.
2. Разгару болезни.

3. Периоду реконвалесценции.
4. Выделительно-аллергической фазе.
5. Фазе бактериемии.

3. К элективным средам для выделения холерного вибриона относятся:

1. Кровяной агар.
2. Щелочной агар.
3. Щелочная пептонная вода.
4. Сахарный бульон.
5. Сывороточный агар.

4. Серовары Огава, Инабо, Гикошима относятся к:

1. *Vibrio cholerae classica*.
2. *Vibrio cholerae eltor*.
3. *Vibrio cholerae* O139 (Бенгал).
4. *Yersinia enterocolitica*.
5. *Campylobacter fetus*.

5. Исследуемый материал при брюшном тифе:

1. Кровь.
2. Испражнения.
3. Мокрота.
4. Моча.
5. Ликвор.

Билет 5

1. Характеристика бактерий рода *Shigella*. Международная классификация шигелл. По каким свойствам отличаются шигеллы друг от друга? Заболевание, вызываемое шигеллами.

2. Назовите сальмонеллы – возбудителей пищевых токсикоинфекций, их свойства, какие из них учитываются при дифференциации?

3. Как дифференцируют холерные вибрионы и определяют серологические варианты?

4. Специфическая профилактика холеры.

Тесты

1. Какие составные части среды Эндо влияют на цвет колоний возбудителей кишечных инфекций:

1. МПА.
2. Лактоза.
3. Фуксин.
4. Фуксин, обесцвеченный сульфитом натрия.
5. Ни один из вышеперечисленных.

2. Генетический фактор, контролирующий образование эшерихиями энтеротоксина:

1. Профаг.
2. Пили.
3. Капсула.
4. Плазида.
5. O-антиген.

3. Положительная роль эшерихий для человека:

1. Участвуют в синтезе витаминов.
2. Являются антагонистами патогенных микробов.
3. Расщепляют клетчатку.
4. Участвуют в синтезе белков.
5. Влияют на обмен жиров.

4. Для холерных вибрионов характерно:

1. Быстрое движение.
2. Изогнутая палочка.
3. Монотрих.
4. Капсулообразование.
5. Перитрих.

5. Факторы патогенности холерных вибрионов:

1. Эндотоксин.
2. Энтеротоксин.
3. Пили.
4. Гиалуронидаза.
5. Капсула.

Билет 6

1. Какой исследуемый материал и этапы бактериологического метода исследования брюшного тифа в период бактериемии?
2. Роль кишечной палочки в норме и патологии.
3. Назовите ингредиенты необходимые для серологической диагностики пищевых токсикоинфекций.
4. Лечение и профилактика холеры.

Тесты

1. Энтеропатогенные кишечные палочки вызывают заболевание:

1. Коли-энтерит.
2. Пиелит.
3. Дизентериеподобное.
4. Холероподобное.
5. Отит.

2. Культуральные свойства сальмонелл брюшного тифа, паратифа А и В:

1. Прихотливы к питательным средам.
2. Факультативные анаэробы.
3. Растут на МПА.
4. Облигатные анаэробы.
5. Бесцветные S-колонии на среде Эндо.

3. Питательные среды, используемые при диагностике дизентерии:

1. Плоскирева.
2. Ресселя.
3. Селенитовый бульон.
4. Левина.
5. Висмут-сульфит агар.

4. Для холерных вибрионов характерно:

1. Быстрое движение.
2. Изогнутая палочка.
3. Монотрих.
4. Капсулообразование.
5. Перитрих.

5. Дифференциация возбудителей пищевых токсикоинфекций от возбудителей брюшного тифа осуществляется по:

1. Морфологическим признакам.
2. Тинкториальным свойствам.
3. Антигенной структуре.
4. Ферментативной активности.
5. Токсигенности.

Билет 7

1. Какой биохимический признак на среде Эндо позволяет ориентировочно отличить эшерихии от сальмонелл и шигелл? Какие серовары эшерихий вызывают колиэнтериты у детей раннего возраста? Какая реакция позволяет отличить их друг от друга? Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции?

2. Патогенез тифо-паратифозных заболеваний. Методы микробиологической диагностики на разных стадиях болезни. Перечислите ингредиенты, необходимые для серологической диагностики брюшного тифа.

3. Назовите возбудителей холеры. Какие существуют серовары холерных вибрионов и метод их определения?

4. Как проводится специфическая и неспецифическая профилактика холеры?

Тесты

1. Среда, применяемые для диагностики колибактериозов:

1. Казеиново-угольный агар.
2. Печеночный агар.
3. Среда Ресселя.
4. Среда Эндо.
5. Висмут-сульфит агар.

2. Признаки дифференциации условно-патогенных и энтеро-патогенных эшерихий:

1. Морфологические особенности.
2. Биохимическая активность.
3. Антигенная структура.

4. Культуральные свойства.

5. Окраска по Граму.

3. Морфологические признаки шигелл:

1. Имеют пили.

2. Образуют капсулу.

3. Концы закругленные.

4. Не образуют споры.

5. Перитрихи.

4. Тесты дифференциации холерных и холероподобных вибрионов:

1. Морфология.

2. Окраска по Граму.

3. Антигенная структура.

4. Культуральные свойства.

5. Биохимическая активность.

5. Ранняя диагностика брюшного тифа, паратифа А и В проводится на основании:

1. Заражения животных.

2. Выделения копрокультуры.

3. Серологического метода.

4. Выделения гемокультуры.

5. Кожно-аллергической пробы.

Билет 8

1. Антигены бактерий семейства Enterobacteriaceae. Их химическая природа и локализация в бактериальной клетке.

2. Цель серодиагностики тифо-паратифозных заболеваний. Назовите ингредиенты, необходимые для постановки реакции агглютинации Видаля.

3. Патогенез и клиническая картина холеры. Назовите этапы бактериологического метода диагностики холеры и ингредиенты, необходимые для дифференциации холерных вибрионов от холероподобных.

4. Как проводится специфическая и неспецифическая профилактика тифо-паратифозных заболеваний?

Тесты

1. Эшерихии называются условно-патогенными потому, что:

1. В толстом кишечнике являются естественными обитателями.
2. Патогенными свойствами не обладают.
3. Являются антагонистами патогенных микробов.
4. Участвуют в синтезе витаминов.
5. Вне толстого кишечника вызывают гнойно-воспалительные процессы.

2. Признаки дифференциации условно-патогенных и энтеро-патогенных эшерихий:

1. Морфологические особенности.
2. Биохимическая активность.
3. Антигенная структура.
4. Культуральные свойства.
5. Окраска по Граму.

3. Классификация сальмонелл по Кауфману – Уайту основана на:

1. Биохимической активности.
2. Антигенной структуре.
3. Тинкториальных свойствах.
4. Морфологических особенностях.
5. Токсинообразовании.

4. Для сальмонеллезов характерно:

1. Развитие гастроэнтерита.
2. Алиментарный путь заражения.
3. Источник инфекции – животные.
4. Антропонозное заболевание.
5. Короткий инкубационный период (до 24 часов).

5. Дифференциальный признак *Salm. typhimurium* и *Salm. enteritidis*:

1. Морфология.
2. Культуральный признак.
3. Углеводный обмен.
4. Белковый обмен.
5. Антигенные свойства.

Билет 9

1. Чем обусловлена патогенность эшерихий? Какие генетические факторы контролируют образование эшерихиями токсинов, колицинов?

2. Источники и пути передачи дизентерии. Патогенез дизентерии, основные клинические проявления. Правила забора и доставки материала для микробиологического исследования.

3. Назовите сальмонелл-возбудителей пищевых токсикоинфекций. Какие свойства позволяют их дифференцировать?

4. Назовите питательные среды, применяемые для диагностики холеры. Как проводится ускоренная диагностика холеры?

Тесты

1. Для дизентерии характерно:

1. Поражение толстого кишечника.
2. Тенезмы.
3. Присутствие слизи и крови в испражнениях.
4. Фекально-оральный механизм передачи.
5. Поражение тонкого кишечника.

2. Необходимые ингредиенты для серологической диагностики дизентерии:

1. Иммунные, диагностические, агглютинирующие сыворотки.
2. Диагностикум, состоящий из разных видов шигелл.
3. Сыворотка больного.
4. Чистая культура, выделенная из фекалий больного.
5. Физиологический раствор.

3. Подвижность, сравниваемая с полетом ласточки, являющаяся обязательным диагностическим тестом, характерна для:

1. *Escherichia coli*.
2. *Salmonella typhi*.
3. *Shigella flexneri*.
4. *Vibrio cholera*.
5. *Helicobacter pylori*.

4. Характерные свойства возбудителя классической холеры:

1. Чувствительность к полимиксину.
2. Агглютинация сывороткой O1

3. Проявляет гемолитическую активность.
4. Чувствительны к бактериофагу IV группы Мукерджи.
5. Агглютинация сывороткой O139.

5. Фаготипирование выделенных брюшнотифозных палочек имеет значение для:

1. Эффективной спецтерапии.
2. Определения вирулентности сальмонелл.
3. Выявления источника инфекции.
4. Специфической профилактики.
5. Идентификации возбудителя.

Билет 10

1. Назовите заболевания, вызываемые энтеропатогенными эшерихиями. Объясните патогенез каждого из них.

2. Классификация и характеристика свойств шигелл: морфологических, культуральных, антигенных, токсинообразования.

3. Цель серологической диагностики шигеллезов. Назовите реакцию и необходимые ингредиенты для серодиагностики шигеллезов.

4. Что такое диагностикум и для чего он используется?

Тесты

1. Иммуитет при брюшном тифе:

1. Гуморальный.
2. Антитоксический.
3. Антимикробный.
4. Клеточный.
5. Продолжительный.

2. Для экстренной профилактики брюшного тифа применяется:

1. Иммуноглобулин.
2. Тетрациклин.
3. Химическая вакцина.
4. Поливалентный брюшнотифозный бактериофаг.
5. Колибактерин.

3. Тесты дифференциации различных видов шигелл:

1. Морфологические особенности.
2. Окраска по Граму.
3. Антигенные свойства.
4. Ферментация углеводов на среде Гисса.
5. Образование индола.

4. Экспресс-диагностика холеры:

1. Реакция имунофлюоресценции.
2. Кожно-аллергическая проба.
3. Биологический метод.
4. Реакция иммобилизации.
5. Посев на 1%-ную щелочную пептонную воду.

5. Препараты, применяемые для лечения коли-энтеритов:

1. Тетрациклин.
2. Колибактерин.
3. Пенициллин.
4. Фуразолидон.
5. Коли-протейный бактериофаг.

Билет 11

1. Назовите заболевания, вызываемые условно-патогенными эшерихиями. Объясните патогенез этих заболеваний.

2. Назовите холерные вибрионы. Охарактеризуйте их морфологические, культурные и биохимические свойства.

3. Опишите этапы бактериологического метода диагностики дизентерии. Что необходимо для осуществления каждого этапа?

4. Антигены энтеробактерий. Их химическая природа и локализация в бактериальной клетке.

Тесты

1. Иммунитет при дизентерии:

1. Врожденный.
2. Непрочный.
3. Видоспецифический.
4. Гуморальный.
5. Местный.

2. Для профилактики дизентерии в очагах инфекции применяется:

1. Иммуноглобулин.
2. Антитоксическая сыворотка.
3. Бактериофаг.
4. Убитая вакцина.
5. Химическая вакцина.

3. Дифференциальные признаки биоваров *V. cholerae* и *V. eltor*:

1. Чувствительность к специфическому фагу.
2. Антигенные свойства.
3. Агглютинация куриных эритроцитов.
4. Гемолиз эритроцитов барана.
5. Рост на среде с полимиксином.

4. В патогенезе брюшного тифа выделяют следующие фазы:

1. Бактериемии.
2. Токсинемии.
3. Выделительно-аллергическую.
4. Паренхиматозной диффузии.
5. Мезентериального лимфаденита.

5. Факторы патогенности шигелл:

1. Эндотоксин.
2. Экзотоксин.
3. Способность к адгезии.
4. Инвазивная способность.
5. Биохимическая активность.

Билет 12

1. Перечислите препараты зубиотики и обоснуйте применение их при лечении колиэнтеритов.

2. Назовите возбудителей тифо-паратифозных заболеваний. Какие элективные и дифференциально-диагностические среды применяют для выделения сальмонелл из крови, фекалий? Как дифференцируют сальмонеллы – возбудителей тифо-паратифозных заболеваний по антигенным и биохимическим свойствам?

3. Патогенез и основные клинические проявления при холере и холероподобных заболеваниях. По каким признакам отличаются

холерные вибрионы от холероподобных? Назовите факторы патогенности возбудителей холеры.

4. Лечение и профилактика сальмонеллезов (пищевых токсикоинфекций).

Тесты

1. Положительная роль эшерихий для человека:

1. Участвуют в синтезе витаминов.
2. Являются антагонистами патогенных микробов.
3. Расщепляют клетчатку.
4. Участвуют в синтезе белков.
5. Влияют на обмен жиров.

2. Морфологические признаки палочек брюшного тифа, паратифа А и В:

1. Перитрихи.
2. Закругленные концы.
3. Средние размеры.
4. Образуют споры.
5. Имеют капсулу.

3. Для реакции агглютинации с целью серологической диагностики брюшного тифа и паратифов используются следующие ингредиенты:

1. Чистая культура, выделенная от больного.
2. Иммунные диагностические тифо-паратифозные сыворотки.
3. Диагностикумы, содержащие бактерии *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*.
4. Сыворотка больного.
5. Физиологический раствор.

4. Культуральные свойства шигелл:

1. Требовательны к питательным средам.
2. Щелочелюбивые.
3. Факультативные анаэробы.
4. На среде Плоскирева колонии бесцветные.
5. Среда обогащения – селенитовый бульон.

5. Тесты дифференциации различных видов шигелл:

1. Морфологические особенности.
2. Окраска по Граму.
3. Антигенные свойства.
4. Углеводный обмен.
5. Образование индола.

Билет 13

1. Практическая значимость и способ определения фаговара сальмонелл. Какие селективные и дифференциально-диагностические среды применяются при культивировании и идентификации сальмонелл?

2. Этапы бактериологического метода исследования холеры. Дифференциальные признаки *Vibrio cholerae classica* и *Vibrio cholerae eltor*.

3. Как проводится специфическая и неспецифическая профилактика холеры?

4. Как получают иммунные диагностические сыворотки эшерихиозные, сальмонеллезные, шигеллезные и др.? Цель их применения.

Тесты

1. Экспресс-диагностика холеры:

1. Реакция иммунофлюоресценции.
2. Кожно-аллергическая проба.
3. Биологический метод.
4. Реакция иммобилизации.
5. Посев на 1%-ную щелочную пептонную воду.

2. Для экстренной профилактики холеры применяется:

1. Интерферон.
2. Иммуноглобулин.
3. Тетрациклин.
4. Анатоксин.
5. Бактериофаг.

3. Бактериальный диагностикум используют для определения:

1. Вида бактерий.
2. Морфологических свойств бактерий.
3. Антител в сыворотке крови больного.
4. ГНТ.
5. ГЗТ.

4. Фаза бактериемии при тифо-паратифозной инфекции соответствует:

1. Разгару болезни.
2. Периоду паренхиматозной диффузии.
3. Реконвалесценции.
4. Началу болезни.
5. Выделительно-аллергическому периоду.

5. *Vibrio cholerae eltor* отличается от *Vibrio cholerae classica* следующими свойствами:

1. Морфологическими.
2. Способностью лизировать эритроциты.
3. Антигенными.
4. Биохимическими.
5. Чувствительностью к соответствующему бактериофагу и полимиксину.

Билет 14

1. Условно-патогенные эшерихии, физиологическая роль в кишечнике человека. Почему их называют условно-патогенными. Санитарно-показательное значение эшерихий.

2. Какие заболевания вызывают энтеропатогенные эшерихии? Основные клинические проявления и патогенез различных форм эшерихиозов.

3. Ингредиенты, необходимые для серологической диагностики (реакции Видаля) тифо-паратифозных заболеваний.

4. Этапы лабораторной диагностики холеры и применяемые питательные среды. Ингредиенты, необходимые для дифференциации холерных вибрионов, входящих в O1 группу.

Тесты

1. Наиболее частыми возбудителями пищевых токсикоинфекций являются сальмонеллы:

1. Typhi murium.
2. Paratyphi.
3. Cholerae suis.
4. Paratyphi B.
5. Enteritidis.

2. При тифо-паратифозных инфекциях материал для исследования:

1. Кровь.
2. Отделяемое миндалин.
3. Желчь.
4. Мокрота.
5. Фекалии.

3. Энтероинвазивные кишечные палочки вызывают у человека заболевания:

1. Холероподобные
2. Дизентериеподобные.
3. Псевдомембранозный колит.
4. Тифоподобные.
5. Колиэнтериты.

4. Диагностические иммунные противодизентерийные сыворотки применяются для определения вида:

1. Шигелл.
2. Сальмонелл.
3. Эшерихий.
4. Иерсиний.
5. Клебсиелл.

5. Для определения вида возбудителя пищевой токсикоинфекции применяются реакции:

1. Агглютинации.
2. Преципитации.
3. Гемолиза.
4. Бактериолиза.
5. Связывания комплемента.

Учебно-исследовательская работа 22

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА АНАЭРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ – ГАЗОВОЙ ГАНГРЕНЫ, СТОЛБНЯКА И БОТУЛИЗМА

План

1. Изучение схемы микробиологических исследований при анаэробных инфекциях.
2. Бактериологическая диагностика газовой гангрены, ботулизма и столбняка.
3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при раневых инфекциях.

Практическое задание и методика работы

1. Прокипятить на водяной бане среду Китта – Тароцци в течение 10 мин, остудить в холодной воде. Прокаленной петлей захватить кусочек некротизированной ткани или мышцы, сделать посев на среду Китта – Тароцци и молоко.
2. Для посева перевязочного материала нужно взять прокаленным пинцетом ватный шарик или марлевый тампон, поместить в пробирку со средой Китта – Тароцци, петлей опустить на дно.
3. Для заражения белой мыши в стерильной ступке растереть кусочек колбасы, добавить физраствор, размешать. Через 30 мин эмульсию профильтровать через бумажный фильтр и ввести 0,5 мл фильтрата подкожно белой мыши.
4. Изучить морфологию, окраску, рост на питательных средах возбудителей газовой гангрены, столбняка, ботулизма.

Контрольные вопросы

1. Назовите возбудителей газовой гангрены. Каковы их морфологические, культуральные свойства?
2. Токсины и ферменты патогенности клостридий газовой гангрены.
3. Механизм заражения и условия, способствующие развитию болезни.

4. Роль микробных ассоциаций в патогенезе газовой гангрены.
5. Как проводится бактериологическое исследование газовой гангрены? Для чего и как определяют тип токсина?
6. Как получают антитоксические противогангренозные сыворотки и для чего их применяют?
7. Назовите вакцины, содержащие гангренозные анатоксины.
8. Специфическая терапия и профилактика газовой гангрены.
9. Клостридии столбняка, морфология, культуральные свойства.
10. Токсинообразование, какими свойствами обладает столбнячный экзотоксин?
11. Патогенез столбняка у человека и животных.
12. Как проводится микробиологическая диагностика столбняка? Как определяется экзотоксин в исследуемом материале и в культуре?
13. Что вводят людям при любых травмах? Правила введения и механизм действия.
14. Для чего при травмах наряду с противостолбнячной сывороткой вводят анатоксин?
15. Как получают противостолбнячную сыворотку?
16. Специфическая терапия и профилактика столбняка.
17. Назовите вакцины, содержащие столбнячный анатоксин.
18. Морфологические и культуральные свойства клостридий ботулизма.
19. Условия выживания и размножения в окружающей среде клостридий ботулизма.
20. Токсинообразование. Свойства и антигенная структура ботулотоксина и методы его обнаружения.
21. Причины заболевания и патогенез ботулизма.
22. Лабораторная диагностика ботулизма.
23. Препараты для специфической профилактики и терапии ботулизма.

Учебно-исследовательская работа 23

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ – ЧУМЫ И ТУЛЯРЕМИИ

План

1. Изучение схем микробиологической диагностики чумы и туляремии.
2. Бактериологические и серологические методы исследования при зоонозных инфекциях.
3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при чуме и туляремии.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию палочек чумы и туляремии в органах и в чистой культуре.
2. Посмотреть под микроскопом (объектив $\times 8$ со спущенным конденсором колонии вакцинного штамма EV.

Контрольные вопросы

1. Морфологические, культуральные особенности возбудителей чумы. Методы выделения чистой культуры возбудителей чумы.
2. Источники и пути распространения чумы. Патогенез.
3. Режим работы при исследовании больных и объектов на наличие чумы (карантинная инфекция).
4. Экспресс-диагностика чумы.
5. Бактериологическая диагностика чумы. На основании каких тестов идентифицируют культуру чумных бактерий?
6. Как и с какой целью проводится биопроба при чуме и в чем её преимущество по сравнению с другими методами?
7. Препараты для лечения и специфической профилактики чумы.
8. Морфологические и культуральные особенности возбудителей туляремии.
9. Источники и пути распространения туляремии. Патогенез и основные клинические формы туляремии у человека.

10. Какие методы используются для микробиологической диагностики туляремии? Их общая характеристика и сравнительная оценка.

11. Как ставится и оценивается аллергическая проба при туляремии? Можно ли её использовать для ранней диагностики заболевания?

12. Препараты, используемые для лечения и специфической профилактики туляремии.

Учебно-исследовательская работа 24

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ – СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ И БРУЦЕЛЛЕЗА

План

1. Изучение схем микробиологической диагностики сибирской язвы и бруцеллеза.

2. Бактериологическое, серологическое и аллергологическое исследование при зоонозных инфекциях.

3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при сибирской язве и бруцеллезе.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию палочек сибирской язвы в органах и в чистой культуре.

2. Просмотреть под микроскопом (объектив $\times 8$) опущенным конденсором колонии вакцинного штамма сибиреязвенной палочки. Зарисовать форму колоний.

3. Для постановки реакции Асколи осторожно по стенке пробирки наслоить вытяжку из исследуемого материала (X-антиген) 1,0–2,0 мл на преципитирующую сибиреязвенную сыворотку. В положительных случаях образуется кольцо преципитата белого цвета.

4. Изучить морфологию, культуральные свойства, дифференциацию бруцелл.

5. Для постановки реакции Хеддльсона нанести на предметное стекло испытуемую сыворотку: 1-я капля – 0,04 мл, 2-я капля – 0,02 мл, 3-я капля – 0,01 мл. К каждой капле сыворотки добавить по капле (0,05 мл) диагностикума. Смешать диагностикум с сывороткой легким покачиванием.

Учет результатов: если агглютинация диагностикума наблюдается только в 1-й капле – реакция сомнительная; в 1-й и 2-й каплях – реакция слабоположительная; в 3-х каплях – реакция положительная.

6. Учесть развернутую пробирочную реакцию Райта.

Контрольные вопросы

1. Морфология, культуральные свойства, токсинообразование, антигенная структура сибирезвенных палочек.

2. Какой материал исследуется при сибирской язве? Какие микробиологические методы используются для диагностики сибирской язвы?

3. Как дифференцируют сибирезвенные палочки от антракоидов?

4. Как осуществляется проверка животного сырья на зараженность сибирезвенными палочками?

5. Специфическая профилактика и специфическая терапия сибирской язвы.

6. Морфология, культуральные свойства, токсинообразование, антигенная структура, биохимическая активность бруцелл.

7. Какие свойства бруцелл используются для классификации их на виды?

8. Какой из видов бруцелл наиболее патогенен для человека?

9. Источник инфекции и пути заражения бруцеллезом.

10. Какие микробиологические методы применяются для диагностики бруцеллеза?

11. Какой материал от больного исследуется для выделения возбудителя бруцеллеза?

12. Какие серологические методы используются для диагностики бруцеллеза?

13. Как производится и учитывается опсонофагоцитарная реакция?

14. Как ставится аллергическая проба Бюрне? О чем свидетельствует положительная реакция Бюрне? Есть ли другие способы выявления ГЧЗТ?

15. Что такое бруцеллин и как его получают?

16. С какой целью ставится реакция Кумбса?

17. Что такое неполные антитела?

18. Специфическая профилактика бруцеллеза.

19. В чем заключается принцип вакцинотерапии бруцеллеза?

Учебно-исследовательская работа 25

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА, ВОЗВРАТНОГО ТИФА, ЛЕПТОСПИРОЗА

План

1. Изучение схем микробиологической диагностики сифилиса, возвратного тифа, лептоспирозов.

2. Микроскопическая и серологическая диагностика спирохетозов.

3. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при спирохетозах.

Практическое задание и методика работы

1. Поставить реакцию Вассермана по схеме. Учесть результаты реакции.

Поставить серологический диагноз заболевания, исходя из полученных данных.

2. Для диагностики сифилиса поставить реакцию микропреципитации с кардиолипиновым антигеном.

Постановка реакции микропреципитации: 0,2 мл исследуемой сыворотки внести в лунку пластины. Добавить 0,1 мл эмульсии кардиолипинового антигена. Перемешать, покачивая пластинку. Добавить 0,1 мл физиологического раствора. Перемешать, покачивая и оставить на 5 мин.

Параллельно в качестве контроля ставят реакцию с заведомо положительной и заведомо отрицательной сыворотками. При положительном результате наблюдается появление хлопьев крупных и средних размеров.

3. Для микроскопической диагностики возвратного тифа кровь для мазка и «толстой» капли берут у больного во время выраженной симптоматики (лихорадка, бред). С целью освоения методики приготовления мазка крови и препарата «толстой» капли кровь нужно взять у морской свинки. Ухо морской свинки обрабатывают спиртом и делают надрез. Первую каплю снимают ватой, вторую и последующие используют для мазка и «толстой» капли. Фиксируют мазок крови смесью Никифорова 15 минут. «Толстая» капля не фиксируется, окрашивают мазки по Романовского – Гимзе. Краска Романовскому – Гимзе разводится дистиллированной водой (2 капли на 1 мл воды). Красить 30–40 мин.

4. Для микроскопической диагностики лептоспироза из патологического материала или культуры приготовить на предметном стекле препарат «раздавленная» капля. Микроскопировать в темном поле с сухой системой (объектив $\times 40$).

Контрольные вопросы

1. Классификация спирохет и их роль в патологии человека.
2. Биологические признаки бледной трепонемы и особенности её культивирования.
3. Патогенез заболевания и характер иммунитета при сифилисе.
4. Как проводится микробиологическая диагностика сифилиса?
5. Какие реакции в КСР (комплекс серологических реакций) являются отборочными, обладают высокой чувствительностью и позволяют окончательно подтвердить диагноз сифилиса.
6. На чем основан принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР) при диагностике сифилиса.
7. Объясните механизм реакции Вассермана и реакции преципитации. Почему возможно применение неспецифических антигенов в этих реакциях?

8. Морфологические и культуральные признаки возбудителей эпидемического и эндемического возвратного тифа.

9. Как происходит заражение боррелиями? Патогенез и характер иммунитета.

10. Как проводится микробиологическая диагностика возвратного тифа?

11. Дифференцирование возбудителей эпидемического и эндемического возвратного тифа.

12. Классификация лептоспир и их роль в патологии человека.

13. Как происходит заражение лептоспирами? Патогенез и характер иммунитета при лептоспирозе.

14. Как проводится микробиологическое исследование при лептоспирозе и определение видовой и типовой принадлежности лептоспир?

15. Препараты, применяемые для специфической профилактики лептоспироза.

Учебно-исследовательская работа 26

Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА РИККЕТСИОЗОВ И КУ-ЛИХОРАДКИ

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики риккетсиозов.

2. Методы выявления и идентификации риккетсий.

3. Серологическая диагностика риккетсиозов.

4. Диагностические, профилактические и лечебные препараты, применяемые при риккетсиозах.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию, окраску риккетсий.

2. Реакцию агглютинации риккетсий РАР поставить по таблице. Дана сыворотка больного, предварительно разведенная 1:10 (0,1 мл сыворотки и 0,9 мл физраствора). Для последующих разведений сыворотки даны шесть пробирок, для контроля – две

пробирки. Сыворотку, разведенную 1:10, налить в первую, вторую и седьмую по 0,2 мл. Из второй пробирки (с надписью 1:40) 0,2 мл перенесите в третью, с третьей в четвертую и т. д., поэтому разведения сыворотки удваиваются. Из шестой пробирки (последняя опытная) 0,2 мл вылить в дезинфицирующий раствор. Во все пробирки, кроме седьмой, добавить 0,2 мл диагностикума из риккетсий Провачека. Риккетсиозный диагностикум – это взвесь риккетсий в физиологическом растворе. Таким образом, в шести пробирках получили различные разведения сыворотки (1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640) + диагностикум = опыт, в седьмой пробирке – сыворотка + физраствор = контроль сыворотки, в восьмой пробирке – физраствор + диагностикум = контроль диагностикума. После встряхивания пробирки поставить в термостат при 37 °С на 10–20 часов. Результат считается положительным, если в контроле антигена взвесь риккетсий остается гомогенной, а в контроле сыворотки жидкость прозрачная, в пробирках с разведением сыворотки – агглютинация риккетсий.

Контрольные вопросы

1. Классификация риккетсиозов.
2. На основании каких признаков можно доказать принадлежность риккетсий к бактериям?
3. Какие свойства риккетсий сближают их с вирусами?
4. Какими особенностями метаболизма риккетсий можно объяснить внутриклеточный паразитизм? Методы, применяемые для культивирования риккетсий.
5. Риккетсии Провачека и риккетсии тифа – возбудители эпидемического и эндемического сыпного тифа, их биологическая характеристика.
6. Микробиологическая диагностика эпидемического и эндемического сыпного тифа.
7. Как дифференцировать эпидемический сыпной тиф от эндемического? Лабораторные методы, применяемые для этой цели.
8. Как отличить первичную инфекцию – эпидемический сыпной тиф от рецидива болезни Брилла – Цинссера, вызванного тем же возбудителем?

9. Коксииеллы Бернета – возбудители Ку-лихорадки. Микробиологическая диагностика (серологическая, аллергическая и биологические пробы).

10. Специфическая профилактика риккетсиозов.

Учебно-теоретическая работа 27

Коллоквиум 3 по разделу: АНАЭРОБНЫЕ, ЗООНОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ, СПИРОХЕТОЗЫ, РИККЕТСИОЗЫ

**(Собеседование, тестовый контроль,
ситуационные задачи)**

1. Возбудители анаэробной газовой инфекции. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

2. Возбудители столбняка. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика и лечение.

3. Возбудители ботулизма. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

4. Возбудители чумы. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

5. Возбудители туляремии. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

6. Возбудители сибирской язвы. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

7. Возбудители бруцеллеза. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

8. Особенности микробиологической диагностики при карантинных инфекциях. Экспресс-диагностика.

9. Возбудители сифилиса. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика

10. Возбудители эпидемического и эндемического возвратного тифа, их свойства, характеристика. Патогенез заболеваний, лабораторная диагностика, специфическая профилактика и лечение.

11. Возбудители лептоспирозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.

12. Возбудители эпидемического и эндемического сыпного тифа. Таксономия. Характеристика, патогенез заболеваний. Блезнь Брилля – Цинссера. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

13. Возбудитель Ку-лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники пути передачи инфекции, патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика, профилактика и лечение.

Билет 1

1. Назовите и нарисуйте возбудителей газовой гангрены. Морфологические особенности, позволяющие дифференцировать *C. perfringens* от других возбудителей газовой гангрены.

2. Какая реакция позволяет определить зараженность сырья (шерсть, шкура, мех) возбудителем сибирской язвы? Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции, как их получают?

3. Источники и пути распространения лептоспироза. Этапы бактериологического метода диагностики лептоспироза с указанием исследуемого материала, питательной среды и идентификации чистой культуры возбудителя.

4. Специфическая профилактика и терапия сибирской язвы.

Тесты

1. Материалом для бактериологического метода исследования возвратного тифа является:

1. Мокрота.
2. Гной.
3. Испражнения.
4. Кровь.
5. Сыворотка крови.

2. Газовая гангрена – это инфекция:

1. Эпидемическая.
2. Раневая.
3. Зоонозная.
4. Анаэробная.
5. Аэрогенная.

3. Токсины возбудителей газовой гангрены определяются в реакции:

1. Агглютинации.
2. Связывания комплемента.
3. Иммунофлюоресценции.
4. Нейтрализации на белых мышах.
5. ИФА.

4. Анатоксин является вакциной против:

1. Кори.
2. Коклюша.
3. Столбняка.
4. Бруцеллеза.
5. Туляремии.

5. Клиническим проявлением действия ботулинического токсина является:

1. Тонические сокращения жевательных и мимических мышц.
2. Расстройство аккомодации, двоение в глазах.
3. Развитие специфической аллергии.
4. Некроз тканей.
5. Петехиальная сыпь.

Билет 2

1. Свойства экзотоксина и ферментов патогенности возбудителей газовой гангрены. Патогенез и клинические проявления газовой гангрены.

2. Бактериоскопический метод диагностики сибирской язвы. Какие морфологические признаки характерны для *Bac. anthracis* в мазках из клинического материала и чистой культуры и какими методами их определяют?

3. Этапы бактериологического метода исследования чумы с указанием исследуемого материала, питательных сред, характера роста и свойств, позволяющих идентифицировать возбудителя.

4. Препараты, применяемые для специфической профилактики и терапии столбняка. Как их получают и применяют?

Тесты

1. Риккетсии Провачека культивируются:

1. В желчном бульоне.
2. На сывороточном агаре.
3. На чувствительных животных.
4. В культуре клеток.
5. В курином эмбрионе.

2. Болезнь Брилля отличается от эпидемического сыпного тифа:

1. Высоким титром IgG.
2. Наличием педикулеза.
3. Доброкачественным течением.
4. Единичными случаями заболевания.
5. Эпидемической вспышкой.

3. Природные очаги чумы в Кыргызстане:

1. Алайский.
2. Прикаспийский.
3. Закавказский.
4. Тяньшанский.
5. Чуйский.

4. Основные симптомы столбняка:

1. Неукротимая рвота.
2. Клонические, тонические судороги.
3. Птоз.
4. Геморрагическая сыпь на коже.
5. Тенезмы, диарея.

5. Переносчиками возбудителя эпидемического возвратного тифа являются:

1. Тараканы.
2. Москиты.
3. Вши.
4. Мухи.
5. Комары.

Билет 3

1. Механизм заражения и условия, способствующие развитию газовой гангрены. Как получают антитоксические противогангренозные сыворотки, для чего и как их применяют?

2. Как происходит заражение лептоспирами? Патогенез и характер иммунитета при лептоспирозах.

3. Источники и пути распространения туляремии. Патогенез и основные клинические формы туляремии у человека. Особенности

выделения возбудителя туляремии и его идентификация.

4. Назвать и нарисовать возбудителя сифилиса. Его морфологические признаки и особенности культивирования.

Тесты

1. Причиной инфицирования столбняком является:

1. Криминальный аборт.
2. Укус собак.
3. Употребление невымытых овощей.
4. Нестерильные препараты для инъекций.
5. Пулевые, ножевые и др. ранения.

2. Источником заражения туляремией являются:

1. Мыши, крысы.
2. Зайцы, ондатры.
3. Верблюды.
4. Кошки, собаки.
5. Человек.

3. Необходимые ингредиенты для серологической диагностики бруцеллеза в реакции агглютинации Райта:

1. Иммунные диагностические сыворотки.
2. Диагностикум.
3. Сыворотка больного.
4. Физраствор.
5. Бруцеллин.

4. К роду Трепонета относятся возбудители:

1. Холеры.
2. Трихомониаза.
3. Сифилиса.
4. Лептоспироза.
5. Возвратного тифа.

5. Основные признаки первичного сифилиса:

1. Геморрагическая сыпь.
2. Судороги.
3. Твердый шанкр.
4. Мягкий шанкр.
5. Диарея.

Билет 4

1. Клостридии столбняка, морфология, особенности культивирования. Методы создания анаэробных условий. Свойства столбнячного экзотоксина и его роль в патогенезе столбняка.

2. Эпидемиология и патогенез сифилиса, стадии болезни. От чего зависит выбор метода микробиологической диагностики сифилиса? Как проводится микроскопическое исследование материала при сифилисе? Какие существуют методы окраски трепонем?

3. Назовите возбудителей эпидемического и эндемического сыпного тифа. Механизм заражения и особенности патогенеза сыпного тифа.

4. Назовите препараты для специфической терапии и профилактики ботулизма, как их получают и применяют?

Тесты

1. Болезнь Брилля отличается от эпидемического сыпного тифа:

1. Высоким титром IgG.
2. Наличием педикулеза.
3. Доброкачественным течением.
4. Единичными случаями заболевания.
5. Эпидемической вспышкой.

2. Морфологически лептоспиры характеризуются:

1. Подвижностью.
2. Спиралевидной формой.
3. Наличием концевых крючков.
4. Кислотоустойчивостью.
5. Наличием мелких завитков.

3. Противосибиреязвенная вакцина СТИ содержит:

1. Анатоксин.
2. Инактивированные микроб.
3. Антигены.
4. Споры бескапсульных бацилл.
5. Рекомбинантные молекулы ДНК.

4. Сибиреязвенный антиген в сырье выявляется с помощью реакции:

1. Агглютинации Видаля.
2. Преципитации Асколи.
3. Связывания комплемента Вассермана.
4. Иммунодиффузии Манчини.
5. РСК Борде – Жангу.

5. Для дифференциации бруцелл имеет значение:

1. Бактерицидное действие красителей.
2. Реакции агглютинации монорецепторными сыворотками.

3. Выделение сероводорода.
4. Тип дыхания.
5. Лизис фагом ТБ.

Билет 5

1. Назовите и нарисуйте возбудителя чумы, перечислите свойства: морфологические и культуральные, позволяющие идентифицировать. С помощью какой реакции идентифицируют возбудителя чумы по антигенным свойствам? Какие ингредиенты необходимы для этой реакции?

2. Причины возникновения ботулизма, патогенез, основные клинические проявления. Для чего и как применяют антитоксические противоботулинические сыворотки? Как их получают?

3. Какой метод диагностики применяется при массовых обследованиях на сифилитическую инфекцию различных континентов людей: доноров крови, беременных женщин, работников детских учреждений, пищевых предприятий и др.? Что значит нетрепонемные (неспецифические) антигены? С каким антигеном и как ставится микрореакция преципитации (МРП)?

4. Источники и пути распространения туляремии. Патогенез и основные клинические формы туляремии у человека. Какие методы микробиологической диагностики применяются?

Тесты

1. Клиническим проявлением действия ботулинического токсина является:

1. Тонические сокращения жевательных и мимических мышц.
2. Расстройство аккомодации, двоение в глазах.
3. Развитие специфической аллергии.
4. Затруднение глотания.
5. Появление афонии.

2. Для лечения сибирской язвы применяют:

1. Антибиотики.
2. Вакцину.
3. Иммуноглобулин.

4. Интерферон.
5. Антитоксическую сыворотку.

3. Факторами, способствующими развитию газовой гангрены, являются:

1. Глубокие рваные раны.
2. Ожоги конечностей.
3. Кровопотеря.
4. Длительное наложение жгута (более 2 часов).
5. Отморожение конечностей.

4. Возбудитель сифилиса характеризуется:

1. Кислотоустойчивостью.
2. Парным расположением клеток.
3. Спиралевидной формой.
4. Капсулообразованием.
5. Спорообразованием.

5. Для специфической профилактики бруцеллеза применяется:

1. Обезвреживание продуктов и сырья животного происхождения.
2. Выявление и ликвидация бруцеллеза среди животных.
3. Вакцинация живой вакциной ВА-19.
4. Введение специфического иммуноглобулина.
5. Дератизация и дезинсекция.

Билет 6

1. Источник инфекции и пути заражения бруцеллезом. Морфология, культуральные свойства, токсинообразование, антигенная структура, биохимическая активность бруцелл.

2. Патогенез сифилиса, периоды заболевания и основные клинические проявления в полости рта.

3. Какие методы используются для микробиологической диагностики туляремии? Их общая характеристика и сравнительная оценка.

4. Препараты для специфической профилактики сыпного тифа и методы их получения.

Тесты

1. Антитоксическую противостолбнячную сыворотку получают путем гипериммунизации лошади:

1. Убитой культурой возбудителя столбняка.
2. Экзотоксином столбнячной палочки.
3. Столбнячным анатоксином.
4. Тетаноспазмином.
5. Тетанолизинном.

2. Отличительные признаки сибиреязвенного карбункула от стафилококкового:

1. Безболезненный.
2. Болезненный.
3. Гнойный.
4. Цвет сине-зеленый.
5. Не выражен отек.

3. Для серологической диагностики сыпного тифа в качестве исследуемого материала от больного берут:

1. Отделяемое пораженной ткани.
2. Выделенную чистую культуру.
3. Слизь из зева.
4. Сыворотку крови больного.
5. Дефибринированную кровь.

4. Бледная трепонема хорошо размножается:

1. На кровяном агаре.
2. В ткани яичка кроликов-самцов.
3. В культуре клеток.
4. В оболочках куриных эмбрионов.
5. На среде Эндо.

5. Глубокие, рваные раны, ожоги, кровопотеря, отморожение конечностей являются факторами, способствующими развитию:

1. Ботулизма.
2. Бруцеллез.
3. Пневмонии.
4. Газовой гангрены.
5. Скарлатины.

Билет 7

1. Роль ботулинического экзотоксина в патогенезе и клинической картине болезни. С какой целью определяют серологические варианты экзотоксина? Какие ингредиенты участвуют в реакции нейтрализации экзотоксина и как ставится эта реакция?

2. Каковы пути заражения сибирской язвой и соответствующие клинические формы? Что такое антраксин, для чего и как его используют. Как проявляется положительная реакция и о какой форме иммунного ответа свидетельствует?

3. Какие реакции относятся к подтверждающим и позволяющим поставить окончательный диагноз сифилиса? С каким антигеном их ставят? Какой исследуемый материал при этом используют?

4. Как дифференцировать эпидемический сыпной тиф от эндемического?

Тесты

1. Поздние формы сифилиса характеризуются:

1. Наличием инфекционной аллергии.
2. Особой опасностью для окружающих.
3. Локализацией трепонем в мозговой ткани.
4. Развитием нагноительных процессов.
5. Необратимыми изменениями в ЦНС.

2. Заражение лептоспирозом происходит при:

1. Купании в открытых водоемах.
2. Использовании воды из открытых водоемов.
3. Употреблении продуктов домашнего консервирования.
4. Работе в воде.
5. Укусе блох.

3. Для экстренной специфической профилактики столбняка применяется:

1. Антибиотики.
2. Бактериофаг.
3. Интерферон.
4. Антибактериальная сыворотка.
5. Антитоксическая сыворотка.

4. Ботулизм развивается при:

1. Укусе зараженных блох.
2. Употреблении немытых овощей.
3. Контакте с больным.
4. Употреблении в пищу консервов домашнего приготовления.
5. Разделке туши большого животного.

5. Морфологические особенности возбудителя чумы:

1. Биполярная окраска.
2. Грамотрицательные.
3. Грамположительные.
4. Образуют споры.
5. Образуют нежную капсулу.

Билет 8

1. Патогенез и клиническая картина эпидемического сыпного тифа и болезни Брилла – Цинссера. Дифференциальные признаки этих заболеваний.

2. В каком периоде сифилиса развиваются специфические очаги поражения в полости рта? Как они проявляются? Какую опасность представляют для окружающих? Какие методы диагностики могут подтвердить диагноз вторичного сифилиса? Как их осуществить?

3. Этапы бактериологического метода диагностики лептоспироза с указанием питательной среды, характера роста, метода обнаружения лептоспир и определения их видовой принадлежности.

4. Назовите препараты для специфической профилактики и лечения заболеваний, возбудители которых образуют экзотоксины. Как их получают и применяют?

Тесты

1. Факторами патогенности *C. perfringens* являются:

1. Продукция экзотоксина.
2. Капсулообразование.
3. Ферменты патогенности.
4. Биохимическая активность.
5. Наличие фимбрий.

2. Возбудитель эпидемического возвратного тифа относится к роду:

1. Treponema.
2. Mycobacterium.
3. Nocardia.
4. Borrelia.
5. Leptospira.

3. Идентификацию чумных бактерий проводят на основании определения:

1. В мазках палочках овоидной формы биполярно окрашенных палочек.
2. Колоний в виде «кружевных платочков».
3. Лизиса со специфическим фагом.
4. Агглютинации со специфической сывороткой.
5. Теста «жемчужного ожерелья».

4. Возбудитель сифилиса характеризуется:

1. Кислотоустойчивостью.
2. Парным расположением клеток.
3. Спиралевидной формой.
4. Капсулообразованием.
5. Спорообразованием.

5. Для бруцелл характерно:

1. Медленный рост.
2. Выраженная ферментативная активность.
3. Рост на печеночных средах.
4. Антигенная однородность.
5. Разная потребность в кислороде.

Билет 9

1. Назовите возбудителя Ку-лихорадки. Морфология, окраска, структура, культивирование. Патогенез болезни. Какая серологическая реакция позволяет поставить диагноз Ку-лихорадки? Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции?

2. Возбудители эндемического возвратного тифа: морфологические и биологические свойства. Патогенез. Лабораторная диагностика.

3. Особенности иммунитета при сифилисе. На фоне какой формы иммунного ответа образуется сифилитическая гранулема-гумма? К чему приводит распад гуммы?

4. Специфические препараты для профилактики и лечения газовой гангрены. Как их получают и как применяют? Каковы причины развития анафилактического шока и как его предупредить?

Тесты

1. Микробиологическая диагностика ботулизма включает:

1. Выделение чистой культуры и ее идентификацию.
2. Обнаружение токсина в исследуемом материале.
3. Культивирование в условиях повышенной аэрации.
4. Определение серовара в реакции нейтрализации токсина.
5. Опсонофагоцитарную реакцию.

2. Для сибирязвенной палочки характерно:

1. Требовательность к питательным средам.
2. Колонии в виде «львиной гривы».
3. Строгие анаэробы.
4. Колонии в виде «кружевного платочка».
5. Утрата клеточной стенки на среде с пенициллином.

3. Возбудитель сифилиса отличается:

1. Малой резистентностью.
2. Образованием спор.
3. Трудностью культивирования.
4. Образованием цист.
5. Культивированием в курином эмбрионе.

4. Ботулизм – это инфекция:

1. Пищевая интоксикация.
2. Особо опасная.
3. Природно-очаговая.
4. Зоонозная.
5. Капельная.

5. Для эндемического возвратного тифа характерно:

1. Источник – грызуны.
2. На МПА рост колоний в виде «львиной гривы».
3. Зоонозная инфекция.

4. Полиэтиологическая инфекция.
5. Волнообразное течение.

Билет 10

1. Этапы бактериологического метода диагностики бруцеллеза с указанием питательных сред, характера колоний и тестов, позволяющих дифференцировать бруцелл.

2. Клостридии ботулизма, морфология, культуральные свойства. Экология. Источник инфекции, механизм заражения. Роль экзотоксина в патогенезе ботулизма. Основные клинические проявления. Как и для чего определяют тип ботулинического экзотоксина?

3. Что значит серонегативный и серопозитивный периоды сифилиса? Какие ингредиенты необходимы для микрореакции преципитации, которая используется как отборочная для предварительной диагностики сифилиса при массовых обследованиях различных когтингентов людей?

4. Специфическая профилактика сыпного тифа.

Тесты

1. Возбудитель сифилиса отличается:

1. Высокой резистентностью.
2. Наличием спор.
3. Трудностью культивирования.
4. Образованием капсулы.
5. Формированием цист.

2. Возбудителем эпидемического возвратного тифа является:

1. *Borrelia hispanica*.
2. *Borrelia recurrentis*.
3. *Borrelia caucasica*.
4. *Borrelia duttoni*.
5. *Borrelia persica*.

3. Поздние формы сифилиса характеризуются:

1. Наличием инфекционной аллергии.
2. Особой опасностью для окружающих.

3. Локализацией трепонем в мозговой ткани.
4. Развитием нагноительных процессов.
5. Необратимыми изменениями в ЦНС.

4. Заражение лептоспирозом происходит при:

1. Купании в открытых водоемах.
2. Использовании воды из открытых водоемов.
3. Употреблении продуктов домашнего консервирования.
4. Работе в воде.
5. Укусе блох.

5. Особая опасность чумы обуславливается:

1. Природной очаговостью.
2. Тяжелым течением.
3. Высокой летальностью.
4. Выраженной контагиозностью.
5. Спорообразованием.

Билет 11

1. Серологический метод диагностики туляремии с указанием реакции и необходимых ингредиентов.

2. Какие реакции позволяют подтвердить и поставить окончательный диагноз сифилиса? Какой антиген при этом используется?

3. Назовите возбудителя сибирской язвы его морфологические, культуральные свойства, токсины, ферменты патогенности. Как осуществляется и учитывается аллергический метод диагностики сибирской язвы? О чем свидетельствует положительная реакция?

4. Назовите возбудителей эпидемического и эндемического возвратного тифа, их морфологические и культуральные свойства.

Тесты

1. Для микробиологической диагностики чумы производят:

1. Иммунофлюоресцентную микроскопию исследуемого материала.
2. Посев исследуемого материала на МПА с генцианвиолетом .
3. Постановку кожно-аллергической пробы.

4. Обнаружение антител в сыворотке крови.
5. Заражение экспериментальных животных.

2. Естественной средой обитания клостридий столбняка является:

1. Воздух.
2. Кишечник травоядных животных.
3. Почва.
4. Пищевые продукты.
5. Кишечник человека.

3. Для дифференциации бруцелл имеет значение:

1. Бактерицидное действие красителей.
2. Реакция агглютинации с монорецепторными сыворотками.
3. Выделение сероводорода.
4. Тип дыхания.
5. Лизис фагом ТБ.

4. Особенности физиологии лептоспир:

1. Неприхотливы к питательным средам.
2. Растут на водно-сывороточной среде.
3. облигатные анаэробы.
4. Растут быстро.
5. образуют цисты.

5. Птоз, расширение зрачков, диплопия, сухость во рту, затруднение глотания, афония, глухота являются симптомами:

1. Столбняка.
2. Газовой гангрены.
3. Дифтерии.
4. Микоплазмоза.
5. Ботулизма.

Билет 12

1. Назовите возбудителя ботулизма и его серологические варианты. Источники, пути передачи, патогенез заболевания. Этапы бактериологического метода с указанием исследуемого материала, питательных сред и характера роста. Как определить тип экзотоксина.

2. Патогенез эпидемического и возвратного тифа. Какой метод микробиологической диагностики является основным и как он проводится?

3. Источник, пути передачи, патогенез Ку-лихорадки. Назовите ингредиенты, необходимые для серологической диагностики Ку-лихорадки с помощью реакции агглютинации.

4. Препараты для специфической профилактики и лечения заболеваний, возбудители которых образуют экзотоксин.

Тесты

1. Для специфической профилактики бруцеллеза применяется:

1. Обезвреживание продуктов и сырья животного происхождения.
2. Выявление и ликвидация бруцеллеза среди животных.
3. Вакцинация живой вакциной ВА-19.
4. Введение специфического иммуноглобулина.
5. Дератизация и дезинсекция.

2. Для микробиологической диагностики чумы производят:

1. Иммунофлюоресцентную микроскопию исследуемого материала.
2. Посев исследуемого материала на МПА с генцианвиолетом.
3. Постановку кожно-аллергической пробы.
4. Обнаружение антител в сыворотке крови.
5. Заражение экспериментальных животных.

3. Хирургическая обработка ран, раннее введение поливалентной антитоксической сыворотки, оксигенотерапия – мероприятия, необходимые для профилактики и лечения:

1. Сибирской язвы.
2. Лептоспироза.
3. Актиномикоза.
4. Газовой гангрены.
5. Хламидиоза.

4. Для вторичного сифилиса характерно:

1. Прогрессивный паралич.
2. Бактериемия.
3. Твердый шанкр.

4. Высыпания на коже, слизистых.
5. Обилие трепонем в элементах сыпи.

5. Болезнь Брилля – это рецидив:

1. Сыпного тифа.
2. Возвратного тифа.
3. Брюшного тифа.
4. Ку-лихорадки.
5. Лептоспироза.

Билет 13

1. С какой целью и как определяют тип экзотоксина возбудителя газовой гангрены? Какие ингредиенты необходимы для этого?

2. Аллергический метод диагностики сибирской язвы. Как осуществляется и какую форму иммунного ответа выявляет?

3. Какие симптомы характерны для первичного, вторичного и третичного периодов сифилиса? Какие методы применяются для диагностики каждого периода сифилиса?

4. Назовите вакцины, содержащие столбнячный анатоксин.

Тесты

1. При бруцеллезе поражаются системы:

1. Кроветворная.
2. Гепатолиенальная.
3. Опорно-двигательный аппарат.
4. Половая.
5. Нервная.

2. Для возбудителя Ку-лихорадки характерно:

1. Полиморфизм.
2. Рост на кровяном агаре.
3. Окраска по Здродовскому.
4. Размножение в курином эмбрионе.
5. Отсутствие подвижности.

3. Клиническая картина эпидемического сыпного тифа характеризуется:

1. Лихорадкой, интоксикацией.
2. Розеолезно-петехиальной сыпью на коже.

3. Поражением ЦНС, сердечно-сосудистой системы.
4. Приступами спазматического кашля.
5. Гастроэнтеритом.

4. Заражение лептоспирозом происходит при:

1. Купании в открытых водоемах.
2. Использовании воды из водопровода.
3. Употреблении продуктов домашнего консервирования.
4. Работе в вирусологической лаборатории.
5. Укусе блох.

5. Возбудителем эпидемического сыпного тифа является Rickettsia:

1. Akari.
2. Sibirica.
3. Prowazekii.
4. Typhi.
5. Conori.

Билет 14

1. Назовите возбудителей эпидемического и эндемического возвратного тифа их морфологические и культуральные свойства. Как происходит заражение боррелиями? Патогенез и характер иммунитета. Как проводится бактериоскопическое исследование?

2. Какие ингредиенты используются в реакции иммунофлюоресценции (РИФ)? С какой целью и как ставится эта реакция?

3. С какой целью используется микрореакция преципитации (МРП)? Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции? О чем свидетельствует положительная РПГА, ИФА, РИБТ с трепонемным антигеном?

4. Методы культивирования риккетсий.

Тесты

1. Для возбудителя ботулизма характерно:

1. Образование экзотоксина.
2. Форма теннисной ракетки.
3. Отсутствие серотипов.

4. Наличие жгутиков-перитрихов.
5. Отсутствие капсулы.

2. Морфологические признаки возбудителя туляремии:

1. Кокковидные палочки.
2. Грамотрицательные.
3. Образуют нежную капсулу в организме.
4. Грамположительные.
5. Образуют споры.

3. Лабораторная диагностика бруцеллеза включает:

1. Микроскопию мазков из патологического материала.
2. Выделение гемокультуры и ее идентификацию.
3. Кожно-аллергическую пробу.
4. Опсонофагоцитарную реакцию.
5. Определение антител в сыворотке крови.

4. Токсин столбняка определяется в реакции:

1. Агглютинации Хеддельсона.
2. Нейтрализации на белых мышах.
3. Преципитации Асколи.
4. Агглютинации Видаля.
5. Связывания комплемента.

5. Для вторичного сифилиса характерно:

1. Прогрессивный паралич.
2. Спинная сухотка.
3. Твердый шанкр.
4. Высыпания на коже, слизистых.
5. Отсутствие трепонем в элементах сыпи.

Учебно-исследовательские работы 28–29

**Тема: ВИРУСЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ОРВИ.
ВИРУСЫ КОРИ И ПАРОТИТА**

План

1. Изучение схемы микробиологической диагностики острых респираторных заболеваний.
2. Ускоренный метод диагностики гриппа и ОРВИ с помощью реакции иммунофлюоресценции РИФ.

3. Вирусологическая диагностика ОРВИ.
4. Серологическая диагностика ОРВИ.

Практическое задание и методика работы

Реакцию торможения гемагглютинации РТГА для обнаружения противогриппозных антител ставят с парными сыворотками больных гриппом: с сывороткой № 1, взятой в первые дни заболевания и хранящейся на холоде, и с сывороткой № 2, взятой через неделю после начала болезни. Сыворотки обрабатывают для инактивации неспецифических ингибиторов, тормозящих гемагглютинацию, и разводят физиологическим раствором 1:10. Реакцию ставят по этапам:

1. В 1 и 2 лунки плексигласовой доски вносят по 0,25 мл сыворотки № 1, а во второй ряд – точно также сыворотку № 2.

2. Наливают физраствор по 0,25 мл в два ряда, начиная со 2-й лунки и до 7-й (получают во 2 лунке 0,5 мл и, соответственно, разведение сыворотки 1:20).

3. Разводят сыворотку № 1 в первом ряду и сыворотку № 2 – во втором ряду аналогично: со 2-й лунки 0,25 мл переносят в 3-ю (1:40), из 3-й в 4-ю (1:80), из 4-й в 5-ю (1:160) из 5-й в 6-ю (1:320). Из 6-й лунки 0,25 мл выливают в дезраствор. В 7-й лунке содержится только физраствор – это контроль.

4. Во все лунки 1-го и 2-го рядов вносят по 0,25 мл суспензии антигена, содержащего 4 АЕ дозы вируса.

5. Инкубируют 20 мин при комнатной температуре для нейтрализации вирусного антигена антителами сыворотки. Затем во все лунки добавляют 1%-ную взвесь эритроцитов петуха по 0,5 мл.

6. Учитывают результат реакции через 45–60 мин. При нейтрализации вируса антителами сыворотки склеивания эритроцитов не происходит (положительная РТГА). Титр антител определяют по максимальному разведению сыворотки, вызывающему торможение гемагглютинации. Диагностическое значение имеет увеличение титра антител в 4 раза.

Контрольные вопросы

1. Какие вирусы вызывают острые респираторные заболевания (ОРВИ)?
2. Структура вирусов, их свойства, репродукция, методы культивирования.
3. Ортомиксовирусы, их общая характеристика.
4. Размеры, структура, тип симметрии, особенности генома вируса гриппа.
5. Каковы особенности антигенной структуры и изменчивости вируса гриппа (шифт и дрейф), эпидемиологическое значение?
6. Культивирование вируса гриппа и его индикация на куриных эмбрионах и в культуре ткани.
7. Патогенез гриппа. Основные этапы его внутриклеточного размножения вируса.
8. Основные клинические признаки гриппа, осложнения.
9. Особенности противовирусного иммунитета.
10. Что такое интерферон? Механизм его противовирусного действия.
11. Каковы вирусологические, серологические и экспресс-методы диагностики гриппа и ОРВИ?
12. Лечение и методы профилактики гриппа.
13. Вирус парагриппа.
14. Респираторно-синцитиальный вирус.
15. Коронавирус.
16. Вирус ТОРС (тяжелого острого респираторного синдрома).
17. Аденовирусы.
18. Вирус паротита.
19. Вирус кори.

Учебно-исследовательская работа 30

Тема: ЭНТЕРОВИРУСЫ: ВИРУСЫ ПОЛИОМИЕЛИТА, КОКСАКИ, ЕСНО. ЭНТЕРАЛЬНЫЕ ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ А, Е

План

1. Микробиологический диагноз острых энтеровирусных инфекций.
2. Вирусологический диагноз полиомиелита.
3. Серологический метод диагностики полиомиелита.
4. Дифференциация энтеровирусов.
5. Вирусы гепатита А (инфекционный гепатит).
6. Вирусы гепатита Е.
7. Микробиологическая диагностика, энтеральных вирусных гепатитов: вирусологические и серологические методы.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить реакцию биологической нейтрализации (РБН) при полиомиелите.

При учете РБН обратить внимание на исходный цвет среды 199 и изменение цвета в результате реакции нейтрализации вируса соответствующей сывороткой (желтый цвет среды с сывороткой 1 типа).

Контрольные вопросы

1. Какова классификация пикорновирусов?
2. Общая характеристика энтеровирусов.
3. Вирус полиомиелита, структура, свойства, культивирование.
4. Каков патогенез полиомиелита?
5. Как выделяют вирус полиомиелита от больных?
6. Какие вирусологические и серологические методы применяют для диагностики полиомиелита и других энтеровирусных заболеваний?

7. Какая вакцина применяется для создания активного коллективного иммунитета против полиомиелита?
8. Какие заболевания вызывают вирусы Коксаки и ЕСНО.
9. Какие микробиологические методы применяют для обнаружения, выделения и идентификации вирусов Коксаки А и В?
10. Лечение и профилактика энтеровирусных заболеваний.
11. Вирус гепатита А, структура, свойства, репродукция, источники и пути заражения, патогенез заболевания.
12. Вирус гепатита Е, структура, свойства, репродукция, источники и пути заражения, патогенез заболевания.
13. Эпидемиологические, клинические, микробиологические методы диагностики гепатита А и Е.
14. Какие биохимические тесты применяются для диагностики вирусных гепатитов?
15. Лечение и специфическая профилактика гепатитов А и Е.

Учебно-исследовательская работа 31

**Тема: ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ В, С, D.
ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА (ВИЧ)**

План

1. Микробиологическая диагностика парентеральных вирусных гепатитов.
2. Вирусологический и серологический методы.
3. Вирусы гепатита В (сывороточный гепатит).
4. Вирусы гепатита С.
5. Вирус гепатита D (дельта-вирус).
6. Особенности структурной организации вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и его генома.
7. Механизм взаимодействия ВИЧ с клеткой, особенности патогенеза инфекции.
8. Вирусологическая диагностика ВИЧ-инфекции.
9. Иммунологическая диагностика ВИЧ-инфекции.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить реакцию встречного осмоэлектроиммунофореза (ВОЭИФ).

2. Изучить реакцию обратной пассивной гемагглютинации (РОПГА).

3. Изучить метод иммуноферментного анализа (ИФА).

Суть метода иммуноферментного анализа – выявление антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом (пероксидазой хрена, галактазой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченной ферментом иммунной сывороткой, в смесь добавляют субстрат, который расщепляется ферментом и окрашивает раствор в желто-коричневый (если применяется пероксидаза) или желто-зеленый цвет. Наиболее распространен твердофазный иммуноферментный метод, на твердом носителе которого, например, в лунках микропанелей из полистирола, сорбируют антиген. В лунки с адсорбированным антигеном добавляют сыворотку крови больного, затем – антиглобулиновую (противочеловеческую) сыворотку, меченную ферментом, и субстрат для фермента. При положительном результате изменяется цвет раствора по сравнению с контролем.

Твердофазный носитель можно сенсibilизировать не только антигеном, но и антителом. Тогда в лунки с сорбированными антителами вносят искомый антиген, добавляют иммунную сыворотку против антигена, меченную ферментом, затем – субстрат для фермента.

Иммуноферментный метод применяется для диагностики вирусных, бактериальных и паразитарных заболеваний, в частности ВИЧ-инфекции, гепатита В и др.

Последовательность постановки ИФА

1. В лунках А1, А2, А3, В1, В2, В3, С1, С2, С3 осаждены ВИЧ-антигены.

2. Планшет промывают раствором ФСБ (фосфатно-солевой буфер) и удаляют влагу, постукивая по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3. В лунки А1, А2, А3 наливают по 1 капле исследуемой сыворотки 1:10.
4. В лунки В1, В2, В3 наливают по 1 капле сыворотки “+” 1:10.
5. В лунки С1, С2, С3 наливают по 1 капле сыворотки “-” 1:10.
6. Планшет помещают в термостат (37 °С, 20 мин).
7. Промывают раствором ФСБ, просушивают.
8. Во все лунки наливают конъюгат (антитела против иммуноглобулинов человека, меченные пероксидазой).
9. Промывают тщательно 5 раз раствором ФСБ, просушивают КС.
10. Во все лунки наливают по 1 капле субстрата для фермента ОФД (ортофенилдиамин) + H_2O_2 . Помещают в термостат (37 °С 20 мин). Все сыворотки разведены КБР (концентрат блокирующий раствор).
11. Учет реакции. При визуальной регистрации результат реакции считают положительным, если имеются отчетливые различия в интенсивности окраски при реакции испытуемой сыворотки (лунки А1, А2, А3) по сравнению с контрольной отрицательной сывороткой в лунках С1, С2, С3.

Контрольные вопросы

1. Вирус гепатита В, структура, антигены, свойства, роль обратной транскриптазы, интегразы.
2. Пути заражения гепатитом В, патогенез заболевания.
3. Какие иммунологические реакции применяются для обнаружения австралийского антигена вируса гепатита В у больных и вирусоносителей?
4. В чем суть иммуноферментного анализа (ИФА) и радиоиммунного анализа (РИА) для определения иммуноглобулинов класса М, G.
5. Какая вакцина используется для создания активного коллективного иммунитета против гепатита В?
6. Вирус гепатита D (дельта-вирус), его геном, какова роль вируса в заболевании?
7. Вирус гепатита С, структура, свойства, особенности генома.

8. Какие тесты применяются для дифференциальной диагностики парентеральных гепатитов В, С, D.
9. Профилактика гепатита В, С, D, лечение.
10. Структура вируса ВИЧ, его геном, тип симметрии.
11. Каковы особенности антигенной структуры и изменчивости ВИЧ, эпидемиологическое значение?
12. Факторы патогенности ВИЧ.
13. Культивирование и резистентность вируса.
14. Способы заражения ВИЧ.
15. Из каких основных этапов складывается процесс взаимодействия вируса ВИЧ с клеткой?
16. Каков механизм развития иммунодефицита человека в результате заражения его возбудителем?
17. Стадии ВИЧ-инфекции.
18. Особенности клинического проявления СПИДа.
19. Какова суть ИФА и РИА для диагностики болезни и носительства ВИЧ?
20. Реакция иммуноблотинга, цель, применения.
21. Вирусологическая диагностика ВИЧ-инфекции.
22. Лечение и профилактика ВИЧ-инфекции/СПИДа.

Учебно-исследовательская работа 32

Тема: ВИРУСЫ ЭНЦЕФАЛИТОВ И ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК. ВИРУС КРАСНУХИ. ВИРУС БЕШЕНСТВА

План

1. Микробиологическая диагностика вирусных энцефалитов (вирусологическая, биологическая, серологическая).
2. Микробиологическая диагностика вирусных геморрагических лихорадок.
3. Микробиологическая диагностика краснухи.
4. Микробиологический диагноз бешенства.

Практическое задание и методика работы

1. На плексигласовых планшетах учесть идентификацию вируса клещевого энцефалита в РТГА с парными сыворотками. Обратит внимание на увеличение титра антител во второй сыворотке в 4 раза по сравнению с первой.

2. Для выделения вируса бешенства производят заражение белой мыши следующим образом: левой рукой мышь плотно прижимают к столу. Большим и указательным пальцами оттягивают кожу головы назад. Затем туберкулиновым шприцем, с предохранительной муфтой на игле, путем прокола лобной кости (несколько латеральнее средней линии) на глубину 1,5–2 мм вводят 0,02–0,03 мл материала.

Контрольные вопросы

1. Классификация арбовирусов.
2. Форма, ультраструктура, химический состав и основные биологические свойства арбовирусов.
3. Природный резервуар арбовирусов.
4. Способы заражения и патогенез весенне-летнего клещевого энцефалита.
5. Микробиологические методы лабораторной диагностики клещевых энцефалитов.
6. Диагностические, лечебные и профилактические препараты, применяемые при энцефалитах.
7. Вирус японского энцефалита, способы заражения, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
8. Вирус омской геморрагической лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
9. Вирус крымской геморрагической лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
10. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
11. Вирус желтой лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

12. Вирус москитной лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

13. Вирус лихорадки Денге, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

14. Вирус краснухи, его свойства, тератогенное действие, патогенез заболевания, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

15. Каковы форма, величина, ультраструктура, тип симметрии вируса бешенства? Биологические свойства вируса.

16. Природный резервуар, способы заражения и патогенез бешенства, основные признаки заболевания.

17. Методы индикации вируса бешенства в исследуемом материале.

18. Чем отличается фиксированный вирус бешенства от уличного?

19. Принципы активной и пассивной профилактики бешенства, механизм образования поствакцинального иммунитета.

Учебно-исследовательская работа 33

Тема: ВИРУСЫ ГЕРПЕСА. ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

План

1. Классификация особенности структурной организации, свойства вирусов герпеса.

2. Механизм взаимодействия вирусов герпеса с клеткой, патогенез инфекций, основные клинические проявления.

3. Микробиологическая диагностика герпес-вирусных инфекций.

4. Диагностические, лечебные и профилактические препараты, применяемые при герпес-вирусных инфекциях.

5. Вирус натуральной оспы, его свойства, культивирование.

6. Микробиологическая диагностика натуральной оспы, лечение и профилактика.

Практическое задание и методика работы

Диагностика натуральной оспы. Постановка реакции микро-преципитации в агаре по Оухтерлони. В чашке Петри создать влажную камеру, для чего смочить водой фильтровальную бумагу. В четыре лунки растопленного агарового геля на предметном стекле раздельно с помощью капилляров помещают антигены и иммунные сыворотки в следующей последовательности (по часовой стрелке): оспенный антиген, нормальная сыворотка, исследуемый материал, иммунная сыворотка.

Антигены и иммунные сыворотки, диффундируя в агар, образуют в месте встречи преципитат в виде полосы. Результат реакции зарисовать.

Контрольные вопросы

1. Герпес-вирусы. Таксономия. Характеристика, биологические свойства.
2. Источники и пути заражения вирусом простого герпеса 1 и 2 типов.
3. Вирус ветряной оспы, патогенез заболевания, иммунитет, лечение, профилактика.
4. Вирус опоясывающего герпеса, источники, пути передачи инфекции, особенности патогенеза, лечение, профилактика.
5. Цитомегаловирус, источники, пути передачи инфекции, его роль в патологии человека, лечение, профилактика.
6. Вирус Эпштейна – Барра, заболевания, вызываемые им, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
7. Вирусы герпеса 6, 7, 8 типов, их роль в патологии человека.
8. Природа иммунитета при герпетических инфекциях.
10. Какова структура и химический состав вируса натуральной оспы?
11. Методы культивирования и резистентность вируса оспы.
12. Каков патогенез натуральной оспы?
13. Вирусоскопические, вирусологические, серологические и экспресс-методы диагностики оспы.
14. Дифференциация вирусов натуральной и ветряной оспы.

15. Природа иммунитета при оспе.
16. Лечение и профилактика оспы.

Учебно-исследовательская работа 34

Тема: МЕДЛЕННЫЕ ИНФЕКЦИИ И ПРИОНОВЫЕ БОЛЕЗНИ. ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

План

1. Вирусы медленных инфекций.
2. Прионовые болезни.
3. Онкогенные вирусы.

Контрольные вопросы

1. Вирусы медленных инфекций. Характеристика возбудителей. Механизм развития и формы проявления.
2. Характерные признаки медленных вирусных инфекций.
3. Принцип лабораторной диагностики медленных вирусных инфекций.
4. Прионы и вириоды, общая характеристика. Этиология, патогенез, формы проявления.
5. Принципы микробиологической диагностики, прионных и вириодных инфекций (Куру, болезнь Крейтцфельда – Якоба, фатальная семейная бессонница, скрепи, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота и др.).
6. Классификация и характеристика онкогенных РНК- и ДНК-вирусов. Механизм онкогенеза.

Учебно-теоретическая работа 35

Коллоквиум 4 по разделу: ВИРУСЫ (Собеседование, тестовый контроль, ситуационные задачи)

1. Значение открытия вирусов Д.И. Ивановским. Этапы развития вирусологии. Роль отечественных ученых в развитии вирусологии.

2. Возбудители ОРВИ. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции.

3. Вирусы гриппа. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

4. Вирусы парагриппа. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

5. Вирус кори. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

6. Вирус паротита. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

7. Респираторно-синцитиальный вирус. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

8. Аденовирусы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

9. Коронавирусы. Вирус атипичной пневмонии – тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

10. Энтеровирусы Коксаки, ЕСНО. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

11. Вирусы полиомиелита. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания,

клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

12. Вирусы гепатитов А, В, С, D, Е. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика, лечение.

13. Арбовирусы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболеваний. Общие принципы микробиологической диагностики арбовирусных инфекций. Основы специфической профилактики и лечения.

14. Вирусы желтой лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

15. Вирус москитной лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

16. Вирус лихорадки Денге. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

17. Вирусы клещевого, японского энцефалитов. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

18. Вирус омской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

19. Вирус крымской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

20. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфек-

ции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

21. Вирус бешенства. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика.

22. Вирус натуральной оспы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика оспы на современном этапе.

23. Вирус краснухи. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

24. Герпес-вирусная инфекция – вирус простого герпеса 1, 2: таксономия, характеристика возбудителей. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

25. Вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

26. Цитомегаловирус. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

27. Вирус Эпштейна – Барра. Таксономия. Характеристика возбудителей. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Профилактика и лечение.

28. ВИЧ-инфекция. Таксономия, характеристика возбудителя. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, профилактика.

29. Классификация и характеристика онкогенных РНК и ДНК вирусов. Механизм онкогенеза.

30. Вирусы медленных инфекций. Характеристика возбудителей. Механизм развития и формы проявления. Принцип лабораторной диагностики.

31. Прионовые болезни. Этиология, патогенез, формы проявления. Принципы лечения и профилактики.

Билет 1

1. Структура вирусов гриппа, особенности генома. Что собой представляют внутренние S-антигены и наружный V-антиген? Какова их роль в классификации вирусов на типы и подтипы? Методы культивирования вирусов гриппа.

2. На какие 2 группы разделяют все вирусные гепатиты по механизму передачи? Назовите эти механизмы и пути передачи, а также вирусы, относящиеся к каждой из этих групп.

3. Какие методы микробиологической диагностики применяются для подтверждения герпетической инфекции? Какой материал используется для вирусологического метода на каких культурах клеток выделяют вирус герпеса, по каким характерным изменениям в культуре клеток распознают вирус? Какая реакция позволяет идентифицировать вирус герпеса? Перечислите ингредиенты, необходимые для постановки этой реакции.

4. Специфическая профилактика полиомиелита. Какие вакцины существуют, и какие из них применяются в Кыргызстане?

Тесты

1. Первичная репродукция вируса гепатита А происходит в:

1. Слизистой оболочке тонкой кишки.
2. Клетках печени.
3. Крови.
4. Головном мозге.
5. Коже.

2. Живая полиомиелитная вакцина обеспечивает:

1. Местный иммунитет слизистых оболочек носоглотки и кишечника.
2. Формирование иммунологической толерантности.
3. Циркуляцию сывороточных иммуноглобулинов А.

4. Развитие гиперчувствительности замедленного типа.
5. Клеточно-опосредованный иммунный ответ.

3. Идентификацию выделенного вируса краснухи проводят в реакции торможения гемагглютинации. Назовите необходимые ингредиенты:

1. Вирус, выделенный в культуре клеток.
2. Сыворотка крови больного.
3. Иммунная диагностическая противокраснушная сыворотка.
4. Среда 199.
5. Носоглоточный смыв.

4. Для вируса паротита характерно:

1. Поражение слюнных, околоушных желез.
2. Формирование гиперчувствительности немедленного типа.
3. Отсутствие ЦПД в культуре клеток.
4. Культивирование на питательных средах.
5. Поражение сердечно-сосудистой системы.

5. Основные признаки онкорнавирусов:

1. Состоят из РНК, капсида, суперкапсида.
2. Не передаются от родителей потомству.
3. Не активизируются мутагенными, канцерогенными факторами.
4. Отсутствуют типоспецифические антигены.
5. Обуславливают нарушение обменных процессов в клетке.

Билет 2

1. Токсономическое положение вируса краснухи, строение вириона. Пути передачи возбудителя. Патогенез краснухи. Какие поражения новорожденных характерны при врожденной краснухе?

2. Какие вирусы относятся к ДНК-геномным онкогенным вирусам? Механизм онкогенеза.

3. Энтеровирусы. Классификация. Структура. Вирус полиомиелита, патогенез заболевания, основные клинические формы полиомиелита. Назовите цель и методы лабораторной диагностики полиомиелита.

4. Назовите препараты, применяемые для специфической активной профилактики и иммунотерапии кори.

Тесты

1. Назовите ферменты ВИЧ:

1. ДНК-аза.
2. Обратная транскриптаза.
3. Нейраминидаза.
4. Протеаза.
5. Интеграза.

2. Парамиксовирусы вызывают заболевания:

1. Полиомиелит.
2. Грипп.
3. Парагрипп.
4. Паротит.
5. Корь.

3. Вирусный гепатит А характеризуется:

1. Парентеральным путем заражения.
2. Фекально-оральным механизмом заражения.
3. Переходом в хроническую форму.
4. Выраженной осенне-зимней сезонностью.
5. Наличием иммунопатологии.

4. Лабораторная диагностика парагриппа осуществляется путем выявления специфического антигена в реакции:

1. Гемолиза.
2. Бактериолиза.
3. Торможения гемагглютинации.
4. Агглютинации.
5. Кольцепреципитации.

5. Для ветряной оспы характерно:

1. Фекально-оральный путь передачи инфекции.
2. Природная очаговость.
3. Возникновение судорожного кашля.
4. Образование телец Гварниери.
5. Развитие аномалий у плода.

Билет 3

1. Назовите семейство, род возбудителя ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Структура вируса, этапы вирусологического метода диагностики с указанием способов культивирования, индикации и идентификации вируса.

2. Вирусы гепатита В: структура, антигены. Патогенез инфекции, клиника. Цель и методы лабораторной диагностики. Лечение, специфическая профилактика.

3. Эндогенные и экзогенные онкорнавирусы. Механизм онкогенеза.

4. Какая вакцина применяется для активной профилактики краснухи, в каком возрасте, и какому контингенту.

Тесты

1. Основные пути передачи ВИЧ:

1. Половой.
2. Через укусы переносчиков-членистоногих.
3. Воздушно-капельный.
4. Через препараты крови, шприцы.
5. Фекально-оральный.

2. Антигены вируса гриппа:

1. Фибринолизин.
2. Нейраминидаза.
3. Коллагеназа.
4. Гемагглютинин.
5. Обратная транскриптаза.

3. Методы культивирования вируса гриппа:

1. Заражением культуры клеток.
2. На средах обогащения.
3. В куриных эмбрионах.
4. Интраназальным заражением хорьков.
5. На элективных средах.

4. Для внутриутробного заражения плода вирусом краснухи в ранние сроки беременности характерно:

1. Легкое течение, заканчивающееся выздоровлением.

2. Поражение органов зрения – двухсторонняя катаракта, глаукома.
3. Поражение органов слуха – глухота.
4. Отставание в физическом и умственном развитии.
5. Продолжительное до 1,5–2 лет выделение вируса.

5. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом отличается от заболеваний, вызываемых арбовирусами:

1. Передается через кровососущих насекомых.
2. Заражение происходит через экскременты инфицированных грызунов.
3. Характеризуется образованием иммунных комплексов в клубочках и извитых канальцах.
4. Возбудитель культивируется в оболочках куриного эмбриона и культуре клеток.
5. Вирусный антиген обнаруживается с помощью РИФ.

Билет 4

1. Что такое интерферон, механизмы его противовирусного действия?
2. Вирус полиомиелита, структура, свойства культивирование. Определение серологического варианта вируса полиомиелита с помощью реакции нейтрализации. Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции?
3. Экспресс-диагностика гриппа осуществляется реакцией иммуфлюоресценции. Какой материал для этого используется, какие ингредиенты необходимы?
4. Подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ). Когда и после какого заболевания развивается, с чем связан? На основании обнаружения каких антител диагностируется?

Тесты

1. Рецидивирование герпетических инфекций обуславливает способность вируса:

1. Повторно размножаться в очаге первичного инфицирования.
2. Активизироваться инсоляцией, переохлаждением.
3. Длительно сохраняться в эпителиальных клетках.

4. Бессимптомно персистировать в нервных ганглиях.
5. Образовывать антитела, обеспечивающие выведение возбудителя из организма.

2. Для клинического течения герпеса 1 типа характерно:

1. Чередование обострений в виде высыпаний на губах и крыльях носа.
2. Клонические и тонические судороги.
3. Рецидивирующее течение.
4. Развитие стоматита, фарингита.
5. Диарея.

3. Характерные свойства вирусов:

1. Клеточная структура.
2. Два типа нуклеиновой кислоты.
3. Размножение делением.
4. Абсолютный внутриклеточный паразитизм.
5. Возможность роста на кровяном агаре.

4. Культивирование вирусов:

1. В культуре клеток, на курином эмбрионе.
2. На простых питательных средах.
3. В анаэробных условиях.
4. В среде 199.
5. В организме чувствительных животных.

5. Фиксированный вирус бешенства:

1. Видоизмененный вирус уличного (собачьего) бешенства.
2. Обладает продолжительным до 1 года инкубационным периодом.
3. Получен Пастером путем многократного пассирования через мозг кролика.
4. Вакцинный штам вируса бешенства со стойко сниженной вирулентностью для человека и др. животных (кроме кролика).
5. Используется для приготовления антирабических вакцин.

Билет 5

1. Вирусы герпеса структура, свойства. Классификация вирусов герпеса человека и заболеваний, вызываемых ими.

2. Патогенез и стадии ВИЧ-инфекции.
3. Назовите семейство, род вируса гепатита А (ВГА). Структура ВГА, этапы репродукции. Механизм, пути заражения и патогенез гепатита А.
4. Онкогенные вирусы. Классификация. Механизмы онкогенеза.

Тесты

1. При оценке иммунного статуса ВИЧ-инфицированных характерно:

1. Резкое снижение количества В-лимфоцитов.
2. Низкий показатель T_4/T_8 .
3. Усиление фагоцитарной активности.
4. Увеличение общего относительного числа лимфоцитов.
5. Резкое снижение количества эритроцитов.

2. Интегративный тип взаимодействия (виrogenия) включает:

1. Цитопатическое действие вируса.
2. Биосинтез вирусных компонентов в клетке.
3. Встраивание нуклеиновой кислоты вируса в хромосому клетки.
4. Выход вируса из клетки.
5. Гибель клетки.

3. Установить присутствие вируса в культуре клеток позволяет наличие:

1. Характерных колоний.
2. Специфических антител.
3. Патологических изменений в клетках.
4. Протеолитических ферментов.
5. Токсинов.

4. Диагностическим признаком герпетической инфекции являются:

1. Обнаружение вируса в РИФ, ИФА, РИА.
2. Наличие гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями.
3. Постановка реакции агглютинации.
4. Нарастание титра антител в РСК.

5. Выделение чистой культуры на питательных средах.

5. Для цитомегаловирусов характерно:

1. Высокая чувствительность к интерферону.
2. Образование гигантских клеток.
3. Персистенция в слюнных железах, почечной паренхиме.
4. Образование внутриядерных включений.
5. Терратогенное действие.

Билет 6

1. Взаимодействие вируса и клетки, особенности репродукции ВИЧ.

2. Характеристика антигенов вируса гриппа А, их локализация. Какие механизмы лежат в основе антигенной изменчивости вируса гриппа А? Перечислите пандемии гриппа и их возбудителей.

3. Укажите связь между заболеваниями «ветряная оспа» и «опоясывающий герпес» (возбудитель, возраст больных, причины возникновения заболевания). Перечислите клетки и ткани организма, в которых вирус ветряной оспы может длительно персистировать.

4. Специфическая профилактика полиомиелита. В чем преимущество живой вакцины Смородинцева – Чумакова?

Тесты

1. Характерные свойства вирусов:

1. Клеточная структура.
2. Один тип нуклеиновой кислоты.
3. Дизъюнктивный способ размножения.
4. Абсолютный внутриклеточный паразитизм.
5. Возможность интеграции в клеточный геном.

2. Культивирование вирусов:

1. Искусственные питательные среды.
2. Куриные эмбрионы.
3. Культуры клеток.
4. Организм экспериментальных животных.
5. Синтетические питательные среды.

3. Главная опасность вируса краснухи заключается в его способности:

1. Продукцироваться в лимфоузлах, вызывая их увеличение и болезненность.
2. Проникать в плаценту и инфицировать плод.
3. Вызывать сыпь по всему телу в виде ярко-розовых пятен.
4. Вызывать гибель плода.
5. Приводить к тяжелым уродствам.

4. Основные признаки онкорнавирусов:

1. Состоят из РНК, капсида, суперкапсида.
2. Передаются от родителей потомству.
3. Активизируются мутагенными, канцерогенными факторами.
4. Отсутствуют типоспецифические антигены.
5. Обуславливают нарушение обменных процессов в клетке.

5. Куру – «хочущая смерть» – характеризуется:

1. Пандемическим характером распространения.
2. Наличием иммунных сдвигов.
3. Непродолжительным инкубационным периодом.
4. Губкообразной энцефалопатией.
5. Связан с употреблением термически не обработанных мозгов своих предков.

Билет 7

1. Источник, пути распространения полиомиелита, патогенез. Основные клинические формы полиомиелита. Вирусологический метод диагностики с указанием исследуемого материала индикации. Как идентифицировать типы вируса полиомиелита в реакции нейтрализации? Какие ингредиенты необходимы для этого?

2. Структура возбудителя эпидемического паротита. Этапы репродукции, патогенез и возможные осложнения. Перечислите цели и методы лабораторной диагностики.

3. Назовите семейство, род и тип возбудителя ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Эпидемиология, патогенез и клинические формы. Что значит терратогенное действие вируса ветряной оспы?

4. Специфическая профилактика и иммунотерапия кори.

Тесты

1. Дизъюнктивный способ размножения характерен для:

1. Бактерий.
2. Грибов.
3. Вирусов.
4. Простейших.
5. Всех перечисленных.

2. Проникающая в клетку вирусная нуклеиновая кислота:

1. Участвует в процессе деления клетки.
2. Несет новую генетическую информацию.
3. Дезорганизует работу клеточных систем.
4. Подавляет собственный метаболизм клетки.
5. Заставляет клетку синтезировать вирусные белки и нуклеиновые кислоты.

3. При оценке иммунного статуса для больных СПИДом характерно:

1. Резкое снижение количества Т-лимфоцитов-хелперов.
2. Низкий показатель T_4/T_8 .
3. Усиление фагоцитарной активности.
4. Увеличение общего относительного числа лимфоцитов.
5. Резкое снижение количества эритроцитов.

4. Вирусы Эпштейна – Барра, цитомегалии, варицелла-зостер относятся к семейству:

1. Poxviridae.
2. Togaviridae.
3. Rabdoviridae.
4. Herpesviridae.
5. Retroviridae.

5. При прогрессирующем склерозирующем панэнцефалите (ПСПЭ) обнаруживается высокий уровень антител к вирусу:

1. Краснухи.
2. Герпеса.
3. Кори.
4. Энцефалита.
5. Полиомиелита.

Билет 8

1. Назовите основные отличия в строении и биологических свойствах цитомегаловируса от других герпес-вирусов. Распространенность ЦМВ-инфекции и способы заражения. Патогенез и клинические формы ЦМВ-инфекции. Основная опасность ЦМВ-инфекции для плода.

2. Назовите биологические жидкости ВИЧ-инфицированного, содержащие высокие концентрации вируса. Перечислите возможные пути передачи ВИЧ. Стадии ВИЧ-инфекции, примерная их продолжительность и клинические признаки, характерные для каждой стадии.

3. Перечислите необходимые ингредиенты для ИФА с целью определения НВs антигена в сыворотке крови больного.

4. Что собой представляет вакцина для специфической профилактики гепатита В? Для какого контингента людей эта прививка обязательна, а для какого – предпочтительна?

Тесты

1. Опоясывающий герпес возникает у человека, перенесшего:

1. Простой герпес.
2. Инфекционный мононуклеоз.
3. Натуральную оспу.
4. Ветряную оспу.
5. Лимфому Беркитта.

2. Болезнь Крейтцфельда – Якоба:

1. Острая бактериальная инфекция.
2. Медленная инфекция прионной природы.
3. Характеризуется прогрессирующей деменцией.
4. Встречается во всех странах мира.
5. Передается через мясо, мозг овец и коров с губкообразной энцефалопатией, а также через устриц и моллюсков.

3. Индикация вирусов в культуре клеток осуществляется по:

1. ЦПД.
2. Характеру колоний.
3. Реакции агглютинации.
4. Реакции торможения гемагглютинации .

5. Биохимическим реакциям.

4. Для вируса гепатита В характерно:

1. Двунитчатая РНК.
2. Дефектность ДНК.
3. Наличие ДНК-полимеразы.
4. Отсутствие суперкапсида.
5. Наличие суперкапсида.

5. Для вируса гриппа характерно:

1. Фрагментированная однонитчатая РНК.
2. Двунитчатая ДНК.
3. Кубический тип симметрии.
4. Средние размеры.
5. Антигенная изменчивость.

Билет 9

1. Укажите семейство, род вируса иммунодефицита человека. Строение вириона. Процесс репродукции ВИЧ.

2. Какие сочетания вариантов Н- и N-антигенов формируют подтипы вируса типа А? Причиной каких пандемий они были? С чем связана антигенная изменчивость вируса гриппа типа А?

3. Классификация и характеристика онкогенных РНК- и ДНК-вирусов. Механизм онкогенеза.

4. Назовите природные очаги клещевого весенне-летнего энцефалита, источник инфекции, способы заражения и патогенез. Вирусологический метод исследования с указанием методов культивирования, индикации и идентификации вируса.

Тесты

1. Материалом для исследования при паротите является:

1. Желчь.
2. Гной.
3. Мокрота.
4. Слюна.
5. Фекалии.

2. Диагностика прионных болезней основана на:

1. Выявлении клинической картины.
2. Определении эпидемиологических данных.
3. Выделении возбудителя и идентификации по антигенным свойствам.
4. Серологическом исследовании.
5. Аллергическом методе.

3. Персистенция – это:

1. Гематогенное распространение микроорганизмов.
2. Аутоиммунный процесс.
3. Гиперчувствительность немедленного типа.
4. Длительное сохранение вируса в организме без клинических проявлений.
5. Ни один из перечисленных.

4. Для культивирования вируса гриппа используют:

1. Куриные эмбрионы.
2. Кровяной агар.
3. Культуры клеток.
4. Среду Китта – Тароцци.
5. Лабораторных животных.

5. Микроскопически цитопатическое действие вирусов в культуре клеток проявляется:

1. В сохранении морфологии клеток.
2. Образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов).
3. Полной деструкцией клеток.
4. Пикнозом ядер.
5. Очаговой мелкозернистой дегенерацией.

Билет 10

1. Вирус краснухи. Структура вируса, источники и пути передачи инфекции, патогенез. Этапы вирусологического исследования с указанием методов культивирования, индикации и идентификации вируса.

2. Вирус гепатита А, структура, свойства, репродукция, источники, пути заражения, патогенез заболевания. Методы микробиологической диагностики.

3. Прионы и вириоды, общая характеристика. Этиология, патогенез, форма проявления болезней. Принцип лабораторной диагностики прионных и вириодных болезней.

4. Специфическая профилактика кори.

Тесты

1. Диагностическим признаком герпетической инфекции являются:

1. Наличие телец Гварниери в клетках кожи.
2. Наличие гигантских многоядерных клеток с внутридермальными включениями.
3. Постановка реакции агглютинации.
4. Токсинообразование.
5. Выделение чистой культуры на питательных средах.

2. Для диагностики цитомегаловирусной инфекции применяют методы:

1. Бласт-трансформации.
2. Биологический.
3. Плазмолиза.
4. Культивирования в культуре клеток.
5. Аллергический.

3. Рецидив в виде локальной везикулярной сыпи по ходу нерва (опоясывающий герпес) возникает после перенесенной в детстве:

1. Натуральной оспы.
2. Генитального герпеса.
3. Ветряной оспы.
4. Цитомегаловирусной инфекции.
5. ВИЧ-инфекции.

4. Препарат для активной специфической профилактики гепатита В:

1. Убитая вакцина.
2. Генноинженерная вакцина.
3. Анатоксин.
4. Живая вакцина.
5. Иммуноглобулин.

5. При аденовирусной инфекции:

1. Репродукция вируса происходит в клетках слизистых дыхательных путей, кишечника.
2. Развивается экссудативно-фибринозное воспаление слизистых с бразованием пленки и некроза.
3. Вирус оказывает терратогенное действие.
4. Некоторые серотипы вызывают опухолевую трансформацию клеток.
5. Аллергизация организма сопровождается развитием астматического бронхита.

Билет 11

1. Аденовирусы. Структура, свойства. Патогенез. Серологический метод диагностики. Как определить нарастание титра антител в РТГА? Какие ингредиенты необходимы для этого?
2. Этапы взаимодействия ВИЧ с клеткой, особенности антигенной структуры и изменчивости ВИЧ.
3. Перечислите прионные болезни. Патогенез, клиника, профилактика, микробиологическая диагностика.
4. Противовирусные препараты, применяемые для экстренной профилактики гриппа, механизм их действия.

Тесты

1. Свойства, характерные для вируса полиомиелита:

1. РНК-геномный.
2. Малая величина.
3. Икосаэдрический тип симметрии.
4. Наличие суперкапсида.
5. ДНК-геномный.

2. Свойства, характерные для вируса гепатита А:

1. РНК-геномный.
2. Размер маленький.
3. Кубический тип симметрии.
4. Отсутствие суперкапсида.
5. ДНК-геномный.

3. Приобретенная цитомегалия у взрослых и детей проявляется в виде:

1. Мононуклеоза.
2. Гиппоподобного заболевания.
3. Остеомиелита.
4. Пневмонии.
5. Гепатита.

4. Антигены вируса гепатита В:

1. Капсульный.
2. Протективный.
3. HBe.
4. HBs.
5. HBc.

5. Для клинического течения герпеса 1 типа характерно:

1. Чередование обострений в виде высыпаний на губах и крыльях носа.
2. Клонические и тонические судороги.
3. Обезвоживание.
4. Развитие деменции.
5. Диарея.

Билет 12

1. Назовите медленные болезни у человека и животных, вызываемые прионами. Патогенез, характерные признаки.

2. Вирусы герпеса, структура, репродукция, современная классификация. Вирусологический метод с указанием способов культивирования, характера ЦПД и идентификации в РН.

3. Какие результаты лабораторных исследований позволяют подтвердить диагноз гепатита В и дифференцировать от других вирусных гепатитов?

4. Из каких основных этапов складывается процесс взаимодействия ВИЧ с клеткой?

Тесты

1. Какие микроорганизмы обладают онкогенными свойствами:

1. Вирусы.
2. Грибы.
3. Простейшие.
4. Хламидии.
5. Спирохеты.

2. Прионы:

1. Индуцируют гнойно-воспалительный процесс.
2. Имеют вирусную структуру.
3. Чувствительны к антибиотикам.
4. Являются белковой инфекционной частицей.
5. Имеют клеточную структуру.

3. Для пассивной иммунопрофилактики гепатита А применяется:

1. Иммуноглобулин.
2. Антитоксическая сыворотка.
3. Аутовакцина.
4. Анатоксин.
5. Интерферон.

4. Необходимые ингредиенты для РБН с целью определения серотипа вируса полиомиелита:

1. Вирус, выделенный в культуре клеток.
2. Сыворотка крови больного.
3. Иммунные диагностические противополомиелитные сыворотки трех типов.
4. Среда 199.
5. Спинномозговая жидкость.

5. Острая врожденная ЦМВ-инфекция:

1. Возникает на поздних сроках беременности.
2. Характеризуется триадой поражений: желтуха, гепатоспленомегалия, геморрагическая пурпура.
3. Приводит к гибели плода.
4. Вызывает развитие микроцефалии, гидроцефалии.
5. Проявляется постепенно через несколько лет после рождения.

Билет 13

1. Охарактеризуйте вакцину, применяемую для активной профилактики гепатита В, объясните принцип ее получения.

2. Источник и пути распространения полиомиелита, патогенез и основные клинические формы. Назовите цели и применяемые методы лабораторной диагностики полиомиелита, охарактеризуйте каждый из них.

3. Перечислите клинические формы, вызываемые ВПГ-1 и ВПГ-2. Где сохраняется вирус в межрецидивный период? Цели и методы лабораторной диагностики герпеса. Какой метод позволяет наиболее быстро поставить окончательный диагноз герпеса?

4. Специфическая профилактика эпидемического паротита. В чем отличие активной и пассивной специфической профилактики паротита?

Тесты

1. Куру – эндемическая медленная инфекция человека прионной природы – характеризуется:

1. Тяжелым поражением иммунной системы.
2. Превращением головного мозга в губчатую массу.
3. Прогрессирующим нарушением координаций движения сильной дрожью.
4. Легким течением и полным выздоровлением.
5. Распространением через ритуальный каннибализм.

2. К прионным относятся болезни (все верно, кроме):

1. Куру.
2. Крейтцфельда – Якоба.
3. Семейная фатальная бессонница.
4. Саркома Капоши.
5. Губчатая энцефалопатия.

3. Вирус паротита относится к семейству:

1. Тогавирусы.
2. Пикорнавирусы.
3. Ортомиксовирусы.
4. Герпесвирусы.
5. Парамиксовирусы.

4. Уличный вирус бешенства:

1. Отличается высокой патогенностью для плотоядных животных и человека.

2. Получен Пастером путем многократного пассирования через мозг кролика.

3. Обуславливает образование телец Бабеша – Негри в нейронах головного мозга у больных животных и человека.

4. Не отличается по антигенному составу от фиксированного вируса.

5. Используется для приготовления антирабических вакцин.

5. Для вируса гепатита В характерно:

1. Двунитчатая РНК.

2. Дефектность ДНК.

3. Наличие ДНК-полимеразы.

4. Отсутствие суперкапсида.

5. Наличие суперкапсида.

Билет 14

1. Форма, величина, ультраструктура вируса бешенства. Природный резервуар, способы заражения, патогенез бешенства и периоды заболевания. Основной метод диагностики, подтверждающий посмертно диагноз бешенства.

2. К какому семейству и роду относится вирус кори? Структура, свойства, этапы репродукции, особенности ЦПД. Какие осложнения возможны через несколько лет после перенесения кори? Патогенез этого осложнения и исход.

3. Опишите типы вакцин, применяемые для профилактики гриппа.

4. Перечислите клетки и ткани организма, в которых вирус ветряной оспы может длительно персистировать.

Тесты

1. Структуры, содержащие инфекционные белки с низкой молекулярной массой, не имеющие нуклеиновых кислот, не вызывающие воспаление и иммунный ответ, являются:

1. Вирусами.
2. Хламидиями.
3. Прионами.
4. Риккетсиями.
5. Грибами.

2. К семейству *Rabdoviridae*, роду *Lissavirus* относятся вирусы:

1. Оспы.
2. Герпеса.
3. Кори.
4. Бешенства.
5. Желтой лихорадки.

3. Пути передачи гепатита В:

1. Воздушно-капельный.
2. Алиментарный.
3. Трансмиссивный.
4. Половой.
5. Парентеральный.

4. Механизм заражения полиомиелитом:

1. Контактный.
2. Трансмиссивный.
3. Фекально-оральный.
4. Воздушно-капельный.
5. Ни один из указанных не имеет значения.

5. Вирус Коксаки А на слизистых оболочках полости рта вызывает:

1. Язвенно-некротический стоматит Венсана.
2. Часто сливающиеся поверхностные эрозии.
3. Гнойное воспаление десневых карманов.
4. Везикулярные высыпания на задней стенке глотки с дисфагией и анорексией.
5. Серозно-геморрагические воспаления с выраженным отеком.

Учебно-исследовательская работа 36

Тема: ПАТОГЕННЫЕ ПРОСТЕЙШИЕ

План

1. Морфологические свойства простейших, их характеристика, классификация.
2. Принципы микробиологической диагностики протозойных инфекций.

Практическое задание и методика работы

1. Изучить морфологию малярийного плазмодия, трипаносом, токсоплазм, лейшманий, трихомонад.

2. Приготовление мазков из десневого кармана, пораженных участков слизистой оболочки полости рта.

На предметное стекло нанести каплю физиологического раствора. Стерильной прокаленной и остуженной петлей или стерильной спичкой взять межзубной налет, содержимое десневого кармана, язвочек, налет со слизистых оболочек полости рта и тщательно размешать в физрастворе. Мазок высушить на воздухе, зафиксировать, окрасить метиленовой синью или по Романовскому – Гимзе. Препарат микроскопировать с иммерсионной системой.

Контрольные вопросы

1. Простейшие, классификация и их общая характеристика.
2. Патогенные представители каждого класса простейших.
3. Морфологические и физиологические особенности малярийного плазмодия.
4. Морфологические и физиологические особенности токсоплазм.
5. Морфологические и физиологические особенности лейшманий.
6. Морфологические и физиологические особенности трипаносом.
7. Морфологические и физиологические особенности трихомонад.

8. Морфологические и физиологические особенности лямблий.
9. Морфологические и физиологические особенности энтамебы.
10. Морфологические и физиологические особенности балантидия.
11. Принципы лабораторной диагностики заболеваний, вызванных простейшими.
12. Основные принципы лечения и профилактики заболеваний, вызванных простейшими.

ЭКЗАМЕНАЦИОННЫЕ ВОПРОСЫ

ОБЩАЯ ЧАСТЬ

1. Л. Пастер – основоположник микробиологии как науки. Влияние работ Пастера на развитие медицинской микробиологии и формирование прикладной иммунологии. Значение работ Р. Коха в практической микробиологии и инфекционной патологии.

2. Заслуги И.И. Мечникова, П. Эрлиха, Ж. Борде, Ф. Бернета в изучении невосприимчивости организма к инфекционным болезням и в развитии иммунологии.

Морфология микроорганизмов

1. Основные принципы классификации микробов.
2. Морфологические и тинкториальные свойства бактерий.

Методы окраски простые и сложные.

3. Структура и химический состав бактериальной клетки. Особенности строения грамположительных и грамотрицательных бактерий.

4. Морфология грибов. Принципы классификации.
5. Морфология простейших. Принципы классификации.
6. Особенности биологии вирусов.
7. Принципы классификации вирусов.
8. Структура и химический состав вирусов и бактериофагов.
9. Прионы и вириды: природа происхождения и функции.
10. Методы микроскопии (люминесцентная, темнопольная, фазово-контрастная, электронная).

Физиология микроорганизмов

1. Рост и размножение бактерий. Фазы размножения.
2. Способы получения энергии бактериями (дыхание, брожение).
3. Типы и механизмы питания бактерий.
4. Основные принципы культивирования бактерий.
5. Искусственные питательные среды, их классификация.

Требования, предъявляемые к питательным средам.

6. Принципы и методы выделения чистых культур бактерий аэробов и анаэробов.

7. Ферменты бактерий. Идентификация бактерий по ферментативной активности.

8. Внутривидовая идентификация бактерий (эпидемиологическое маркирование).

9. Нормальная микрофлора организма и её функции. Дисбиозы. Эубиотики.

10. Действие физических и химических факторов на микроорганизмы. Понятие о стерилизации, дезинфекции, асептике и антисептике.

11. Способы стерилизации, аппаратура.

12. Понятие о химиотерапии и химиотерапевтических препаратах. Механизм действия сульфаниламидов и хинолов.

13. Антибиотики: классификация по источнику получения, способу получения.

14. Антибиотики: классификация по химической структуре, по механизму и спектру действия.

15. Осложнения антибиотикотерапии, их предупреждение.

16. Механизмы лекарственной устойчивости возбудителей инфекционных болезней. Пути преодоления лекарственной устойчивости.

17. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

18. Морфология вирусов.

19. Методы культивирования вирусов.

20. Культура клеток.

21. Типы взаимодействия вируса с клеткой. Фазы репродукции вирусов.

22. Бактериофаги. Взаимодействие фага с бактериальной клеткой. Умеренные и вирулентные бактериофаги. Лизогения. Дефектные фаги.

23. Применение фагов в медицине и биотехнологии.

Генетика бактерий

1. Строение генома бактерий. Понятие о генотипе и фенотипе. Виды изменчивости.
2. Плазмиды, транспозоны, Is-последовательности бактерий, их функции и свойства, использование в генной инженерии.
3. Механизмы передачи генетического материала у бактерий. Модификации, мутации, диссоциации, генетические рекомбинации.
4. Полимеразная цепная реакция. Суть. Компоненты. Применение.

Инфекция и противоинфекционный иммунитет

1. Понятие об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса.
2. Стадии развития и характерные признаки инфекционной болезни.
3. Патогенность и вирулентность бактерий. Факторы патогенности.
4. Токсины бактерий, их природа, свойства, получение.
5. Анатоксины. Получение. Очистка. Титрование. Применение.
6. Система иммунитета, её значение.
7. Иммунитет: врожденный, приобретенный, активный, пассивный, инфекционный, неинфекционный, стерильный, нестерильный.
8. Какие органы иммунной системы относят к центральным и периферическим? Их функции.
9. Назовите основные популяции и субпопуляции клеток иммунной системы. Каковы их основные функции и маркеры?
10. Механизм межклеточной кооперации в реализации первичного иммунного ответа.
11. Особенности иммунитета при бактериальных, вирусных инфекциях и онкологических заболеваниях.
12. Реакция агглютинации. Ингредиенты реакции: антигены, антитела их характеристика. Методы постановки реакции.

13. Что такое диагностикумы, для чего применяются?
14. Как получается диагностическая иммунная сыворотка, для чего применяется?
15. Реакция преципитации. Техника постановки. Применение на практике.
16. Реакция нейтрализации токсина антитоксической сывороткой (феномен флоккуляции). Получение антитоксических сывороток. Практическое использование – диагностическое, лечебное.
17. Реакция иммобилизации.
18. Реакция иммунофлюоресценции прямая и непрямая.
19. Понятие о гибридомах и моноклональных антителах.
20. Механизм радиоиммунного анализа.
21. Иммуноблотинг. Механизм и техника постановки, цель использования.
22. Реакция связывания комплемента, системы, участвующие в реакции, ингредиенты, механизм РСК. Понятие о специфическом и неспецифическом антигене. Практическое значение РСК.
23. Иммуноферментный анализ (ИФА), механизм и техника постановки, цель использования.
24. Понятие об аллергии. Типы аллергических реакций, формы их проявления.
25. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ): гуморальный механизм развития, факторы, виды.
26. Анафилаксия, механизм развития.
27. Десенсибилизация. Метод Безредко.
28. Сывороточная болезнь, проявление, механизм развития, профилактика.
29. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ): механизм развития, факторы, виды (инфекционная).
30. Методы выявления инфекционной аллергии *in vivo* – аллергические пробы и *in vitro* – реакция бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ), реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ).
31. Что такое вакцины? Какие требования предъявляют к вакцинным препаратам?

32. Классификация вакцин, краткая характеристика каждого типа.

33. Что такое аттенуированный штамм, каким требованиям он должен отвечать, как взаимодействует с макроорганизмом?

34. Что представляет собой вакцина БЦЖ? Как получена живая гриппозная вакцина?

35. В каких случаях вакцины применяют для иммунотерапии, приведите примеры таких вакцин. Что такое, аутовакцины?

36. Инфекционные аллергены, принцип их использования в диагностике инфекционных заболеваний.

СПЕЦИАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

1. Таксономия возбудителя: для бактерий – отдел, семейство, род, вид; для эукариотов – классы, виды; для вирусов – ДНК или РНК-геномные вирусы, семейство, род, вид, серогруппа.

2. Характеристика возбудителя: морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические, генетические, антигенные свойства, факторы патогенности, резистентность к различным факторам; биологические модели.

3. Вызываемые заболевания – краткая эпидемиологическая характеристика (источники инфекции, механизм, пути и факторы передачи, восприимчивый коллектив), патогенез, основные клинические проявления, особенности иммунитета.

4. Микробиологическая диагностика: исследуемый материал, применяемые методы диагностики.

5. Специфическая профилактика и этиотропное лечение (вакцины, сыворотки, фаги, химиотерапия).

ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

1. Методы микробиологической диагностики инфекционных болезней.

2. Стафилококки. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых стафилококками. Специфическая профилактика и лечение.

3. Стрептококки (пиогенные и пневмококки). Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций. Лечение.
4. Менингококки. Таксономия. Характеристика. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение.
5. Гонококки. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика гонореи. Лечение.
6. Хламидии. Таксономия. Характеристика. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
7. Микоплазмы. Таксономия. Характеристика. Формы инфекции. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
8. Гарднереллы. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
9. Возбудители дифтерии. Таксономия. Характеристика. Условно-патогенные коринобактерии. Микробиологическая диагностика. Выявление антитоксического иммунитета. Специфическая профилактика и лечение.
10. Возбудители коклюша и паракоклюша. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
11. Возбудители туберкулеза. Таксономия. Характеристика. Условно-патогенные микобактерии. Микробиологическая диагностика туберкулеза. Специфическая профилактика и лечение.
12. Возбудители лепры. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.
13. Актиномицеты. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
14. Возбудители колиинфекций. Таксономия и характеристика. Роль кишечной палочки в норме и патологии. Микробиологическая диагностика коли-инфекций. Лечение и профилактика.
15. Возбудители брюшного тифа и паратифов. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

16. Возбудители сальмонеллезов (пищевых токсикоинфекций, гастроэнтеритов). Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.

17. Возбудители шигеллеза (дизентерии). Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

18. Возбудители холеры. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

19. Возбудители кишечного иерсиниоза. Таксономия и характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

20. Возбудители кампило- и хеликоинфекций. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

21. Возбудители туляремии. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

22. Возбудители сибирской язвы. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

23. Возбудители бруцеллеза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

24. Возбудители чумы. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

25. Особенности микробиологического диагноза при карантинных инфекциях. Экспресс-диагностика.

26. Возбудители анаэробной газовой инфекции. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

27. Возбудители ботулизма. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

28. Возбудители столбняка. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика.

29. Возбудители сыпного тифа. Таксономия. Характеристика. Болезнь Брилля – Цинссера. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

30. Возбудители Ку-лихорадки. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика, профилактика и лечение.

31. Возбудители сифилиса. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

32. Возбудители лептоспирозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

33. Возбудители эпидемического и эндемического возвратных тифов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

34. Роль условно-патогенных микроорганизмов – протей, клебсиелл – в возникновении внутрибольничных инфекций. Клиническая микробиология, её задачи.

35. Синегнойная палочка. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика и лечение.

36. Классификация грибов. Характеристика. Поверхностные и глубокие микозы. Роль в патологии человека. Лабораторная диагностика. Лечение и профилактика микозов различной локализации.

37. Дрожжеподобные грибы Кандида. Таксономия. Характеристика. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.

38. Возбудители малярии. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

39. Возбудитель токсоплазмоза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

40. Возбудители лейшманиозов. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

41. Возбудители трипаносомоза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

42. Возбудитель амебной дизентерии. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

43. Возбудитель балантидиоза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

44. Возбудители лямблиоза, трихомониоза. Таксономия. Характеристика. Микробиологическая диагностика. Лечение.

45. Значение открытия вирусов Д.И. Ивановским. Этапы развития вирусологии. Роль отечественных ученых в развитии вирусологии.

46. Возбудители ОРВИ. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

47. Вирусы гриппа. Таксономия. Характеристика.

48. Вирусы парагриппа. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

49. Вирус кори. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.

50. Вирус паротита. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

51. Респираторно-синцитиальный вирус. Таксономия, характеристика. Патогенез заболевания, лабораторная диагностика, лечение, профилактика.

52. Аденовирусы. Таксономия, характеристика. Патогенез заболевания, лабораторная диагностика, лечение, профилактика.

53. Коронавирусы. Вирус атипичной пневмонии – тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

54. Энттеровирусы Коксаки, ЕСНО. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

55. Вирусы полиомиелита. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.

56. Вирусы гепатитов А, В, С, D, E. Таксономия. Характеристика. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.

57. Арбовирусы. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых арбовирусами. Специфическая профилактика и лечение.

58. Вирусы желтой лихорадки. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

59. Вирус москитной лихорадки. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

60. Вирус лихорадки Денге. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

61. Вирусы клещевого, японского энцефалитов. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.

62. Вирус омской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

63. Вирус крымской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

64. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

65. Вирус бешенства. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.

66. Вирус натуральной оспы. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика оспы на современном этапе.

67. Вирус краснухи. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. специфическая профилактика.

68. Герпес-вирусная инфекция – вирус простого герпеса 1, 2: таксономия, характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

69. Вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

70. Цитомегаловирус. Таксономия. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

71. Вирус Эпштейна – Барра. Таксономия. Характеристика возбудителей. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Лабораторная диагностика. Профилактика и лечение.

72. ВИЧ-инфекция. Таксономия, характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика, профилактика.

73. Классификация и характеристика онкогенных РНК и ДНК вирусов. Механизм онкогенеза.

74. Вирусы медленных инфекций. Характеристика возбудителей. Механизм развития и формы проявления. Принцип лабораторной диагностики.

75. Прионовые болезни. Этиология, патогенез, формы проявления.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

1. Возрастные особенности микрофлоры человека. Динамика микрофлоры кишечника у новорожденных детей. Влияние естественного и искусственного вскармливания на характер микрофлоры кишечника ребенка.

2. Применение бактерицидных препаратов для профилактики дисбактериоза и лечения кишечных заболеваний у детей.

3. Санитарно-бактериологическое исследование продуктов детского питания: молока, молочных смесей и молочно-кислых продуктов.

4. Санитарно-бактериологическое обследование детских учреждений и предметов ухода за ребенком. Значение микрофлоры воздуха для родильных отделений и палат новорожденных.

5. Внутриутробная инфекция, пути заражения плода. Инфекционный процесс в организме плода, новорожденного и детей раннего возраста.

6. Возрастные особенности неспецифической резистентности (гуморальные факторы, клеточные механизмы неспецифической защиты).

7. Развитие клеточных неспецифических механизмов защиты. Особенности воспалительной реакции у детей раннего возраста. Незавершенность фагоцитоза.

8. Возрастные особенности иммунологической реактивности. Динамика антителообразования в развивающемся организме.

9. Возрастные особенности противовирусного иммунитета. Значение плацентарного иммунитета в защите новорожденного от некоторых вирусных инфекций (корь и др.).

10. Особенности проявления кожно-аллергических проб у детей раннего возраста. Их значение в оценке диагностических реакций.

11. Иммунологические взаимоотношения в системе «мать – плод». Изоантигены эритроцитов АВО. Резус-антиген и его значение в патологии беременности.

12. Плановые профилактические прививки. Оценка поствакцинального иммунитета.

13. Проблема санитарной стафилококковой инфекции в педиатрической практике. Возрастные особенности чувствительности детей к стафилококковым токсинам. Значение носительства стафилококков у лиц, работающих в детских учреждениях.

14. Роль стрептококков при скарлатине. Иммунитет после перенесенного заболевания. Определение его напряженности.

15. Гонококки – возбудители бленнореи.

16. Возбудители эшерихиозов у детей. Особенности патогенеза, иммунитета. Лабораторная диагностика.

17. Применение бактериальных препаратов и значение естественного вскармливания при лечении кишечных инфекций у детей младшего возраста.

18. Врожденный сифилис. Особенности лечения и лабораторная диагностика сифилиса.

19. Роль хламидий в патологии беременности и поражении плода.

20. Значение микоплазм в патологии беременности и заболеваний у детей.

21. Дрожжеподобные грибы рода Кандида. Заболевания у новорожденных (молочница). Возбудители дерматомикозов. Значение в детской патологии.

22. Особенности ВИЧ-инфекции у детей.

23. Проблема госпитальной инфекции, вызванной бактериями из семейства кишечных бактерий (сальмонеллы, клебсиеллы) в педиатрической клинике. Пути профилактики.

24. Значение медицинской микробиологии в практической деятельности врача-педиатра.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Зверев В.В., Бойченко М.Н.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
2. *Борисов Л.Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. М., 2005.
3. *Борисов Л.Б.* Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. М., 1979.
4. *Воробьев А.А.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М., 2004.
5. *Воробьев А.А.* Микробиология. М., 1994.
6. *Тимаков В.Д., Левашов В.С., Борисов Л.Б.* Микробиология. М., 1983.
7. *Пяткин К.Д.* Микробиология. М., 1983.
8. *Лебедева М.Н.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М., 1977.
9. *Царев В.Н.* Микробиология полости рта (практикум). М., 2005.
10. *Воробьев А.А., Быков А.С.* Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. М., 2003.
11. *Адамбеков Д.А. и соавт.* Общая микробиология. Противовирусный иммунитет: учебно-метод. пособие по иммунологии к лабораторным занятиям. Ч. I. Бишкек, 2013.

Составители:

*Д.А. Адамбеков, Ф.С. Мустафина,
Г.Р. Бестужева, М.А. Сабодаха,
А.Д. Адамбекова, Г.К. Садыбакасова*

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

**Учебно-методическое пособие
к лабораторным занятиям
для студентов специальностей
«Лечебное дело» и «Педиатрическое дело»**

Редактор *Н.В. Шумкина*
Компьютерная верстка *А.С. Шелестовой*

Подписано в печать 24.10.2016
Формат 60×84 ¹/₁₆. Печать офсетная.
Объем 20,75 п. л. Тираж 100 экз. Заказ 64

Издательство КРСУ
720000, г. Бишкек, ул. Киевская, 44

Отпечатано в типографии КРСУ
720048, г. Бишкек, ул. Горького, 2