



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Основная профессиональная образовательная
программа высшего образования
Педиатрия
Специальность 31.05.02 Педиатрия
(уровень специалитета)
Рабочая программа «Микробиология,
вирусология»
Методические указания для обучающихся

- 1 -

**Методические указания
для обучающихся**



Тематический план контактной работы обучающегося на занятиях семинарского типа

№	Тематические блоки	Объём занятий, ак. часы
	Общий курс (IV семестр)	50
1	Микробиологические лаборатории, их оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами. Морфология бактерий. (часть 1)	2
	Микроскопический метод исследования. Простые методы окраски. (часть 2)	1
2	Ультраструктура и химический состав бактериальной клетки. (часть 1)	2
	Простые и сложные методы окраски. (часть 2)	1
3	Морфология и структура грибов, актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм. (часть 1)	2
	Методы их изучения. (часть 2)	1
4	Физиология микроорганизмов. Питание и дыхание бактерий. Питательные среды. Выделение чистых культур аэробов и анаэробов. (часть 1)	2
	Бактериологический метод исследования, его этапы. (часть 2)	1
5	Ферменты бактерий. (часть 1)	1
	Биохимическая идентификация микроорганизмов. (часть 2)	2
6	Морфология и физиология вирусов. (часть 1)	2
	Методы их культивирования. (часть 2)	1
7	Коллоквиум по темам «Морфология и физиология микроорганизмов»	2
8	Генетика микроорганизмов. (часть 1)	2
	Организация генетического материала у бактерий. (часть 2)	1
9	Санитарная микробиология. Микрофлора воды, воздуха, почвы. Микрофлора молока и молочных продуктов. (часть 1)	2
	Санитарно-показательные микроорганизмы. (часть 2)	1
10	Действие факторов внешней среды на микроорганизмы. Воздействие физических и химических факторов. Стерилизация и дезинфекция. (часть 1)	2
	Асептика и антисептика. Использование в педиатрической практике. (часть 2)	1
11	Действие биологических факторов на микроорганизмы. Химиотерапевтические средства, механизмы их действия. Антибиотики: классификация, механизм действия. (часть 1)	2
	Определение чувствительности к антибиотикам. Осложнения антибиотикотерапии и их предупреждение. (часть 2)	1
12	Нормальная микрофлора организма человека, ее значение. Формирование микрофлоры у детей. (часть 1)	2



	Дисбактериоз, условия развития, профилактика. (часть 2)	1
13	Коллоквиум по пройденным темам.	2
14	Учение об инфекции. Формы инфекции, условия развития инфекционного процесса. (часть 1)	2
	Патогенность, вирулентность. Характеристика бактериальных токсинов. (часть 2)	1
15	Прикладная иммунология. (часть 1)	1
	Факторы и механизмы неспецифической противоинойфекционной защиты организма. (часть 2)	2
16	Факторы специфического иммунитета. Антигены микроорганизмов и вирусов. Взаимодействие антигенов с антителами. (часть 1)	1
	Сероидентификация и серодиагностика инфекционных заболеваний Серологический метод исследования. (часть 2)	2
17	Иммунобиологические препараты: вакцины, сыворотки. Приготовление и назначение. (часть 1)	2
	Коллоквиум по пройденным темам. (часть 2)	2
	Частный курс (V семестр)	51
1	Введение в частную медицинскую микробиологию. (часть 1)	2
	Возбудители бактериальных кишечных инфекций. (часть 2)	1
2	Возбудители бактериальной дизентерии: характеристика шигелл, принципы лабораторной диагностики, лечения и профилактики. Особенности этиопатогенеза у детей. (часть 1)	1,5
	Эшерихиозы – биологические свойства возбудителей, этиопатогенез, лабораторная диагностика. (часть 2)	1,5
3	Сальмонеллы брюшного тифа и паратифов А и В. Сальмонеллезы. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1
4	Холера. Биологические свойства возбудителей, этиопатогенез заболевания. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 1)	2
	Коллоквиум по пройденным темам. (часть 2)	1
5	Патогенные кокки. Стафилококки. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1
6	Стрептококки, пневмококки. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1
7	Грамотрицательные кокки – гонококки, менингококки. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1



8	Воздушно-капельные инфекции. Возбудители дифтерии и коклюша. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1
9	Патогенные микобактерии. Возбудители туберкулеза и лепры. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 1)	2
	Коллоквиум по пройденным темам. (часть 2)	1
10	Зооантропонозные инфекции: возбудители чумы и сибирской язвы: биологические свойства, этиопатогенез заболеваний. (часть 1)	2
	Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. (часть 2)	1
11	Возбудители бруцеллеза и туляремии: биологические свойства. (часть 1)	2
	Принципы лабораторной диагностики, специфическая профилактика и терапия. (часть 2)	1
12	Возбудители анаэробных инфекций: столбняка, ботулизма, газовой гангрены. Биологические свойства. (часть 1)	2
	Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и терапии. (часть 2)	1
13	Спирохетозы: сифилис, лептоспироз, возвратный тиф. Микробиологическая характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика. (часть 1)	2
	Коллоквиум по пройденным темам. (часть 2)	1
14	Вирусы – возбудители инфекционных заболеваний человека. Вирусологический метод исследования. (часть 1)	1
	Возбудители респираторных вирусных инфекций: грипп, парагрипп, ОРВИ. Аденовирусы. (часть 2)	2
15	Герпесвирусы. Вирусы кори, краснухи, паротита. (часть 1)	1,5
	Возбудители энтеровирусных инфекций. Вирусы Коксаки и ЕСНО, полиомиелита. Лабораторная диагностика. (часть 2)	1,5
16	Вирусные гепатиты. Особенности этиопатогенеза у детей. (часть 1)	2
	Диагностика. Специфическая профилактика. (часть 2)	1
17	Онкогенные вирусы. (часть 1)	1,5
	ВИЧ-инфекция. (часть 2)	1,5
	Итого	101



Общий курс ЗАНЯТИЕ № 1

Тема: Микробиологические лаборатории, их оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами. Морфология бактерий. Микроскопический метод исследования. Простые способы окраски.

Цель работы: изучить правила работы в учебной микробиологической лаборатории, научиться пользоваться оборудованием и микроскопировать препараты.

Задачи: овладеть основными навыками работы в микробиологической лаборатории, освоить микроскопический метод исследования, уметь различать формы бактерий, научиться готовить микропрепарат и окрасит простыми способами.

Теоретическая часть:

Преподаватель знакомится с группой и останавливается на требованиях, предъявляемых студентам при работе в микробиологической лаборатории.

Преподаватель знакомит студентов и демонстрирует им лабораторное оборудование. Подробно останавливается на правилах работы с газом, живыми микроорганизмами.

Затем рассматриваются основные методы исследования в микробиологии, останавливаясь на микроскопическом методе исследования, видах микроскопии, устройстве микроскопа. Делается акцент на правилах пользования иммерсионной системой.

Изучают морфологию бактерий. Рассматривают этапы приготовления микропрепаратов из культур микробов, способы окраски, обращая внимание на простой метод окраски, его технику и назначение.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация лабораторного оборудования, таблицы «Кокковидные и палочковидные формы бактерий», готовых микропрепаратов - "Staphylococcus", "Bac. cereus", "E.coli", "Streptococcus" – 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Студенты записывают в тетради тему занятия, цель, задачи.
2. Записывают правила работы в микробиологической лаборатории.
3. Записывают классификацию микробов по форме и этапы приготовления микропрепарата.
4. Микроскопия готовых микропрепаратов "Staphylococcus", "Bac. cereus", "E.coli", "Streptococcus".
5. Приготовление микропрепарата из агаровой культуры стафилококка, окраска метилвиолетом, микроскопия, зарисовка.
6. Приготовление микропрепарата из агаровой культуры E.coli, окраска водным фуксином, микроскопия, зарисовка.

Контрольные вопросы:

1. История и этапы развития микробиологии, роль отечественных и зарубежных ученых в становлении микробиологии как науки.
2. Классификация и номенклатура микроорганизмов.
3. Микробиологическая лаборатория, ее оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами.
4. Микроскопический метод исследования. Определение, виды микроскопии.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 6 -</p>
--	---	---	--------------

4. Устройство микроскопа. Понятие «сухой объектив» и «иммерсионная система». Правила пользования иммерсионной системой.
5. Морфология бактерий, определение, классификация.
6. Этапы приготовления микропрепаратов из культур микробов.
7. Способы окраски. Простой метод окраски, определение, техника и назначение.



ЗАНЯТИЕ № 2

Тема: Ультраструктура и химический состав бактериальной клетки. Простые и сложные методы окраски.

Цель работы: научиться различать отдельные структурные элементы бактерий с использованием сложных методов окраски.

Задачи: овладеть навыками сложных методов окраски, уметь обнаружить структурные элементы бактерий при микроскопировании.

Теоретическая часть:

При разборе темы подробно останавливаемся на постоянных и непостоянных элементах бактериальной клетки, их значении, функции и методах обнаружения. Обращаем внимание на отличия прокариот от эукариот.

Подробно рассматриваются сложные методы окраски, их технику и назначение.

Обращаем внимание на способы изучения подвижности бактерий.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц «Строение бактериальной клетки», «Окраска по Граму», «Окраска по Нейссеру», «Окраска по Циль-Нильсену», «Окраска по Бурри-Гинсу», микропрепаратов «E.coli + Staphylococcus, окраска по Граму», «Капсулы бактерий, окраска по Бурри-Гинсу», «Споры бактерий, окраска по Циль-Нильсену», «Дифтерийная палочка, окраска по Нейссеру», «Жгутики бактерий, окраска по Морозову» - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:


1. Зарисовать структуру бактериальной клетки.
2. Записать технику окраски по Граму, Циль-Нильсену, Бурри-Гинзу, Нейссеру.
3. Зарисовать различное расположение жгутиков и спор у бактерий.
4. Микроскопия готовых микропрепаратов с последующей зарисовкой в протокол.
5. Приготовление микропрепаратов из культур стафилококка и E.coli, окраска по Граму, микроскопия, зарисовка.

Контрольные вопросы:

1. Строение бактериальной клетки, основные структурные элементы. Отличия прокариотической клетки от эукариотической.
2. Строение и функции клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Способы обнаружения оболочки у бактерий.
3. Сложные методы окраски бактерий, их применение.
4. Окраска по Граму, техника, назначение. Отличия грамотрицательных и грамположительных бактерий.
5. Характеристика нуклеоида бактерий, способ выявления.
6. Цитоплазма бактерий, ее структура, функциональное назначение, основные включения.
7. Гранулы волютина, характеристика, метод окраски.
8. Капсула бактерий, функции, способы выявления.
9. Спорообразование у бактерий, метод окраски спор.
10. Жгутики бактерий, метод их обнаружения.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 8 -</p>
--	---	---	--------------

11. Способы изучения подвижности бактерий: методика приготовления препаратов «висячая капля» и «раздавленная капля».

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 9 -</p>
--	---	---	--------------

ЗАНЯТИЕ № 3

Тема: Морфология и структура грибов, актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм. Методы их изучения.

Цель работы: научиться дифференцировать по морфологическим признакам грибов, актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм.

Задачи: изучить строение и овладеть навыками микроскопического обнаружения грибов, актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм.

Теоретическая часть:

В процессе опроса преподаватель подробно останавливается на классификации изучаемых групп микроорганизмов, их характеристике, морфологических свойствах, культивировании. Обращает внимание на методы их обнаружения.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц «Спирохеты», «Актиномицеты», «Нитчатые грибы», «Дрожжи и дрожжеподобные грибы», «Хламидий», «Микоплазмы», готовых микропрепаратов «Candida в чистой культуре», «Актиномицеты из чистой культуры», «Друзы в пораженном органе», демонстрация роста плесневых грибов на среде Сабуро - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записать классификацию грибов.
2. Микроскопировать готовые препараты, зарисовать.
3. Зарисовать с таблиц актиномицет, спирохет, хламидий, микоплазм, риккетсий, нитчатые грибы.

Контрольные вопросы:

1. Строение и способы изучения актиномицетов.
2. Морфология спирохет, способы их изучения.
3. Морфология грибов: классификация, строение и методы изучения.
4. Морфология хламидий, способы их изучения.
5. Морфология микоплазм, способы их изучения.
6. Морфология риккетсий, методы культивирования.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 10 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 4

Тема: Физиология микроорганизмов. Питание и дыхание бактерий. Питательные среды. Выделение чистых культур аэробов и анаэробов. Бактериологический метод исследования, его этапы.

Цель работы: на основании знаний о физиологии микроорганизмов научиться проводить и освоить бактериологический метод исследования.

Задачи: освоить механизмы питания и дыхания бактерий, научиться методам культивирования аэробов и анаэробов, уметь выбрать питательную среду для культивирования микробов, овладеть методами выделения чистых культур и их идентификацией, овладеть навыками микробиологического посева и пересева.

Теоретическая часть:

Назначение термостата и анаэростата. Особое внимание уделяем питательным средам с демонстрацией - простые: МПА, МПБ и сложные: Эндо, ЖСА, КА; демонстрация культуральных свойств на МПБ и средах МПА, ЖСА, КА. Разбираем по таблицам «Культуральные свойства микроорганизмов», «Методы выделения чистых культур анаэробов»; демонстрируем среды Китта-Тароцци, Вильсона-Блера, высокий столбик сахарного агара, свернутое молоко, метод Фортнера. Уделить особое внимание студентов на этапы бактериологического анализа, цели и задачи.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц и роста культур микробов на питательных средах - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить культуральные свойства и характер роста микроорганизмов на питательных средах, описать колонии в протоколе.
2. Сделать посев методом Дригальского, зарисовать технику посева.
3. Ознакомиться и зарисовать среды Кита-Тароцци, Вильсона- Блера.
4. Зарисовать метод Фортнера.
5. Сделать посев чистых культур микроорганизмов на плотные и в жидкие питательные среды.
6. Записать этапы бактериологического анализа.
7. Провести I, II этап бактериологического исследования и записать в протокол.

Контрольные вопросы:

1. Типы питания бактерий: аутотрофы, гетеротрофы, фототрофы, хемотрофы, прототрофы и ауксотрофы.
2. Механизмы транспорта веществ в клетку.
3. Биологическое окисление у аэробных и анаэробных бактерий.
4. Условия культивирования микроорганизмов и фазы развития роста и размножения.
5. Питательные среды, классификация и характеристика.
6. Требования, предъявляемые к питательным средам.
7. Культуральные свойства микроорганизмов, рост в жидких и на плотных питательных средах.
8. Понятие о чистой культуре, методы выделения чистых культур аэробных микроорганизмов.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 11 -</p>
--	---	---	---------------

9. Методы культивирования анаэробов.
10. Методы выделения чистых культур анаэробных микроорганизмов.
11. Бактериологический метод исследования и его этапы



ЗАНЯТИЕ № 5

Тема: Ферменты бактерий. Биохимическая идентификация микроорганизмов.

Цель работы: освоить биохимическую идентификацию чистой культуры микроорганизмов.

Задачи: уметь определять сахаролитическую, протеолитическую и редуцирующую способность микроорганизмов и правильно оценить полученные результаты.

Теоретическая часть:

Уделить особое внимание значению ферментов для идентификации микроорганизмов, ознакомить студентов с понятием «короткий» и «длинный» пестрый ряд сред Гисса. Демонстрация: среды Гисса, Ресселя, Эндо, ЖСА, пробы на индол и сероводород, таблицы «Биохимическая активность микроорганизмов» и «Идентификация микроорганизмов».

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц сахаролитической, протеолитической активности микроорганизмов – 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить посевы на среде «пестрого ряда» - среде Гисса, зарисовать.
2. Изучить ферментативную активность бактерий на средах ЖСА, Эндо, Ресселя, зарисовать в протокол.
3. Сделать посевы в среду Гисса.
4. Поставить пробу на индол и сероводород, зарисовать.
5. Провести 3, 4 этап бактериологического анализа, записать в протокол.

Контрольные вопросы:

1. Биохимическая активность микроорганизмов: ферменты, их биологическое значение в обмене веществ и метаболизме.
2. Классификация ферментов.
3. Определение сахаролитических свойств микроорганизмов. Среды Гисса, Ресселя, их состав, постановка и учет результатов.
4. Определение протеолитических свойств микроорганизмов: среды, постановка и учет результатов.
5. Определение редуцирующей способности микроорганизмов.
6. Значение ферментов каталазы, оксидазы и фосфатазы в идентификации микроорганизмов.



ЗАНЯТИЕ № 6

Тема: Морфология и физиология вирусов. Методы их культивирования.

Цель работы: научиться методам лабораторной диагностики вирусных инфекций.

Задачи: узнать морфологию и физиологию вирусов, усвоить принципы классификации вирусов и их культивирования, методы лабораторной диагностики вирусных заболеваний.

Теоретическая часть:

При разборе темы обращаем внимание на основные свойства, строение и химический состав вирусов. Определяемся с принципами классификации вирусов. Подробно разбираем различные формы взаимодействия вирусов с клеткой с использованием таблиц – «Взаимодействие вируса с клеткой», «Строение вирусов», «Формы вирусов», «Виды симметрии вирусов».

Детально разбираем методы культивирования вирусов и методы диагностики вирусных инфекций с демонстрацией таблиц - «Заражение куриных эмбрионов», «Индикация вирусов на культурах клеток»

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц – 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Зарисовать в протокол строение простых и сложных вирусов.
2. Изучить и зарисовать в протокол формы взаимодействия вируса с клеткой.
3. Микроскопировать готовые препараты «Вирус гриппа окр. по Морозову», «Вирус оспы окр. по Морозову» и зарисовать.
4. Изучить и зарисовать ЦПД вирусов, цветную пробу.
5. Произвести заражение куриных эмбрионов.

Контрольные вопросы:

1. Вирусы – определение и основные свойства. Классификация вирусов.
2. Строение и химический состав вирусов.
3. Продуктивная форма взаимодействия вируса с клеткой (репродукция).
4. Интегративная форма взаимодействия вируса с клеткой.
5. Абортивная форма взаимодействия вируса с клеткой.
6. Методы культивирования вирусов.
7. Признаки индикации и идентификации вирусов.
8. Методы диагностики вирусных инфекций.



ЗАНЯТИЕ № 7

Тема: Коллоквиум по темам «Морфология и физиология микроорганизмов»

Цель работы: контроль качества знаний по пройденным темам:

1. Микробиологические лаборатории, их оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами. Морфология бактерий. Микроскопический метод исследования. Простые способы окраски.
2. Ультраструктура и химический состав бактериальной клетки. Простые и сложные методы окраски.
3. Морфология и структура грибов, актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм. Методы их изучения.
4. Физиология микроорганизмов. Питание и дыхание бактерий. Питательные среды. Выделение чистых культур аэробов и анаэробов. Бактериологический метод исследования, его этапы.
5. Ферменты бактерий. Биохимическая идентификация микроорганизмов.
6. Морфология и физиология вирусов. Методы их культивирования.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Проведение коллоквиума - 125 мин.
3. Подведение итогов коллоквиума - 20 мин.
4. Проверка и уборка рабочих мест - 15 мин.

Контрольные вопросы:

1. История и этапы развития микробиологии, роль отечественных и зарубежных ученых в становлении микробиологии как науки.
2. Классификация и номенклатура микроорганизмов.
3. Микробиологическая лаборатория, ее оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами.
4. Микроскопический метод исследования. Определение, виды микроскопии.
5. Устройство микроскопа. Понятие «сухой объектив» и «иммерсионная система». Правила пользования иммерсионной системой.
6. Морфология бактерий, определение, классификация.
7. Этапы приготовления микропрепаратов из культур микробов.
8. Способы окраски. Простой метод окраски, определение, техника и назначение.
9. Строение бактериальной клетки, основные структурные элементы. Отличия прокариотической клетки от эукариотической.
10. Строение и функции клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Способы обнаружения оболочки у бактерий.
11. Сложные методы окраски бактерий, их применение.
12. Окраска по Граму, техника, назначение. Отличия грамотрицательных и грамположительных бактерий.
13. Характеристика нуклеоида бактерий, способ выявления.
14. Цитоплазма бактерий, ее структура, функциональное назначение, основные включения.
15. Гранулы волютина, характеристика, метод окраски.
16. Капсула бактерий, функции, способы выявления.
17. Споробразование у бактерий, метод окраски спор.
18. Жгутики бактерий, метод их обнаружения.
19. Способы изучения подвижности бактерий: методика приготовления препаратов «висячая капля» и «раздавленная капля».

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 15 -</p>
--	---	---	---------------

20. Строение и способы изучения актиномицетов.
21. Морфология спирохет, способы их изучения.
22. Морфология грибов: классификация, строение и методы изучения.
23. Морфология хламидий, способы их изучения.
24. Морфология микоплазм, способы их изучения.
25. Морфология риккетсий, методы культивирования.
26. Типы питания бактерий: аутотрофы, гетеротрофы, фототрофы, хемотрофы, прототрофы и ауксотрофы.
27. Механизмы транспорта веществ в клетку.
28. Биологическое окисление у аэробных и анаэробных бактерий.
29. Условия культивирования микроорганизмов и фазы развития роста и размножения.
30. Питательные среды, классификация и характеристика.
31. Требования, предъявляемые к питательным средам.
32. Культуральные свойства микроорганизмов, рост в жидких и на плотных питательных средах.
33. Понятие о чистой культуре, методы выделения чистых культур аэробных микроорганизмов.
34. Методы культивирования анаэробов.
35. Методы выделения чистых культур анаэробных микроорганизмов.
36. Бактериологический метод исследования и его этапы
37. Биохимическая активность микроорганизмов: ферменты, их биологическое значение в обмене веществ и метаболизме.
38. Классификация ферментов.
39. Определение сахаролитических свойств микроорганизмов. Среда Гисса, Ресселя, их состав, постановка и учет результатов.
40. Определение протеолитических свойств микроорганизмов: среды, постановка и учет результатов.
41. Определение редуцирующей способности микроорганизмов.
42. Значение ферментов каталазы, оксидазы и фосфатазы в идентификации микроорганизмов.
43. Вирусы – определение и основные свойства.
44. Классификация вирусов.
45. Строение и химический состав вирусов.
46. Продуктивная форма взаимодействия вируса с клеткой (репродукция).
47. Интегративная форма взаимодействия вируса с клеткой.
- 48.Abortивная форма взаимодействия вируса с клеткой.
49. Методы культивирования вирусов.
50. Признаки индикации и идентификации вирусов.
51. Методы диагностики вирусных инфекций.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 16 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 8

Тема: Генетика микроорганизмов. Организация генетического материала у бактерий.

Цель работы: ознакомиться с особенностями генетического аппарата бактерий, механизмами рекомбинации, ролью генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.

Задачи: узнать механизмы изменчивости и виды рекомбинаций бактерий, понять значение плазмид в распространении различных признаков бактерий, усвоить направления и применение биотехнологий.

Теоретическая часть:

При разборе генетического аппарата бактерий обращаем внимание на внехромосомные факторы наследственности, их свойства и разновидности. Подробно разбираем изменчивость бактерий, отличия модификационной от мутационной, способы репарации. Более детально останавливаемся на особенностях и механизмах рекомбинации бактерий с использованием таблиц – «Конъюгация», «Трансдукция», «Трансформация». Подробно изучаем роль генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация опытов по конъюгации, трансдукции и трансформации - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить опыт конъюгации, зарисовать схему в протокол.
2. Изучить опыт трансдукции, схему опыта зарисовать в протокол.
3. Изучить опыт трансформации, схему опыта зарисовать в протокол.
4. Изучить опыты по определению колициногенности и диагностике фенилкетонурии, выводы оформить в протоколе.

Контрольные вопросы:

1. Определение понятий «генотип» и «фенотип». Генетический аппарат бактерий.
2. Внехромосомные факторы наследственности: плазмиды – их локализация, виды и функциональная роль.
3. Внехромосомные факторы наследственности: транспозоны и IS-последовательности – их локализация и функциональная роль.
4. Формы изменчивости микроорганизмов – мутации: определение, классификация, типы и виды.
5. Формы изменчивости микроорганизмов – модификационная: определение, типы и виды.
6. Способы репарации и их характеристики.
7. Формы рекомбинации: гомологичная, сайт-специфическая, незаконная.
8. Конъюгация у бактерий: условия, механизм.
9. Трансдукция у бактерий: условия, типы и механизмы.
10. Трансформация у бактерий: условия и механизм.
11. Практическое значение генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 17 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 9

Тема: Санитарная микробиология. Микрофлора воды, воздуха, почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы. Микрофлора молока и молочных продуктов.

Цель работы: научиться методам оценки санитарного состояния почвы, воздуха, воды и пищевых продуктов.

Задачи: усвоить значение почвы, воздуха, воды и молочных продуктов как факторов передачи инфекции, уметь произвести забор, посев и оценить результаты исследования почвы, воздуха, воды и пищевых продуктов.

Теоретическая часть:

Преподаватель останавливается на критериях, определяющих выбор санитарно-показательных микроорганизмов.

Обращает внимание на санитарную оценку воздуха в жилых помещениях и медицинских учреждениях.

Подробно разбирают определение микробного числа воздуха двумя методами - седиментационным по Коху и аспирационным аппаратом Кротова. Разбирают формулу Омелянского. Подчеркивают преимущества аппарата Кротова перед методом Коха.

Затем преподаватель переходит к разбору микрофлоры воды. Обращает внимание на критерии выбора кишечной палочки в качестве санитарно-показательного микроорганизма. Подробно останавливается на показателях для оценки качества воды и их нормировании. Разбирают методы определения коли-титра воды с использованием мембранных фильтров и бродильных проб.

При изучении микрофлоры почвы необходимо обратить внимание на показатели, которые используются для оценки санитарного состояния почвы, а также на определение санитарно-показательных микроорганизмов.

Обращает внимание на санитарно-эпидемиологическую оценку пищевых продуктов и методы контроля и профилактики их загрязнения.


План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация определения микробного числа воздуха по методу Коха, определения коли-титра воды методом мембранных фильтров, определения коли-титра воды по методу Эйкмана (двухфазно-бродильный метод) - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.


Содержание отчета студентов:

1. Определение микробного числа воздуха методом Коха. Записать методику, вычислить микробное число исследуемого воздуха помещений (учебная комната, туалет, коридор), оформить результаты в виде таблицы.
2. Записать в протокол аспирационный метод определения микробного числа воздуха.
3. Определение коли-титра воды методом мембранных фильтров. Записать методику, вычислить коли-титр воды, оформить результаты в виде таблицы.
4. Зарисовать схему определения коли-титра воды по методу Эйкмана.
5. Обследование кожи рук и различных объектов внешней среды на фекальное загрязнение. Студенты делают смывы с исследуемых объектов стерильным ватным тампоном, смоченным в физиологическом растворе, а затем вносим тампон в пробирку с 5 мл среды Кода. Результаты учитывают через сутки и оформляют в виде таблицы.

Контрольные вопросы:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 18 -</p>
--	---	---	---------------

1. Микрофлора воздуха. Микробное число, методы определения, санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.
2. Микрофлора воды. Показатели фекального загрязнения, микробное число, определение.
3. Санитарно-показательные микроорганизмы воды. Коли-титр, коли-индекс.
4. Методы определения коли-титра и коли-индекса воды. Санитарно-гигиенические нормы для водопроводной воды.
5. Микрофлора почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы, микробное число почвы, методы определения.
6. Микрофлора пищевых продуктов. Микрофлора молока и молочных продуктов Санитарные показатели и методы их определения.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 19 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 10

Тема: Действие факторов внешней среды на микроорганизмы. Воздействие физических и химических факторов. Стерилизация и дезинфекция. Асептика и антисептика. Использование в педиатрической практике.

Цель работы: научиться методам стерилизации лабораторной посуды и питательных сред.

Задачи: уметь правильно подобрать метод стерилизации различных объектов, освоить основные группы дезинфицирующих веществ и механизм их действия на микроорганизмы.

Теоретическая часть:

Преподаватель уделяет особое внимание на формирование понятий о стерилизации, дезинфекции, асептики и антисептики. Использование в педиатрической практике.

Демонстрация автоклава, сухожарового шкафа, опыт Бухнера, опыт Алфельда и Вахле, опыт Гепперта, опыт Коха и Веринга. При изучении методов стерилизации и дезинфекции подробно изучаются режимы и объекты.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация автоклава, сухожарового шкафа, опытов по действию физических и химических факторов - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить опыт Бухнера, зарисовать в протокол.
2. Поставить опыт Алфельда и Вахле, схему опыта зарисовать в протокол.
3. Поставить опыт Гепперта, схему опыта зарисовать в протокол.
4. Поставить опыт Коха и Веринга, схему опыта зарисовать в протокол.
5. Подготовить лабораторную посуду к стерилизации.
6. Заполнить таблицу «Методы и режим стерилизации различных материалов».

Контрольные вопросы:

1. Характеристика влияния физических факторов на микроорганизмы.
2. Влияние химических факторов на микроорганизмы.
3. Понятие о стерилизации. Методы стерилизации.
4. Подготовка лабораторной посуды к стерилизации.
5. Понятие о дезинфекции. Классификация антисептиков по механизму действия и химической природе.
6. Требования к дезинфицирующим веществам.
7. Понятие об асептике и антисептике. Использование в педиатрической практике.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 20 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 11

Тема: Действие биологических факторов на микроорганизмы. Химиотерапевтические средства, механизмы их действия. Антибиотики: классификация, механизм действия. Определения чувствительности к антибиотикам. Осложнения антибиотикотерапии и их предупреждение.

Цель работы: изучить роль антибиотиков в этиотропной терапии инфекционных заболеваний.

Задачи: усвоить принципы рациональной антибиотикотерапии, её осложнения и методы преодоления лекарственной устойчивости бактерий, механизмы лекарственной устойчивости, научиться учитывать результаты методов определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на разную интерпретацию понятий «химиотерапия» и «антибиотикотерапия», подробно останавливается на принципах, лежащих в основе классификации химиотерапевтических препаратов и антибиотиков, а также на механизмах антимикробного действия.

Далее преподаватель переходит к разбору осложнений при химиотерапии, подчеркивая, что все осложнения можно разделить на 2 группы - осложнения со стороны макроорганизма, и осложнения со стороны микроорганизмов. Делает акцент на механизмы развития лекарственной устойчивости микроорганизмов, ее виды и пути преодоления антибиотикорезистентности.

Поясняет принципы рациональной химиотерапии, подробно останавливаясь на методах определения чувствительности микробов к антибиотикам (метод стандартных индикационных дисков и метод серийных разведений).

При разборе бактерицинов и фитонцидов необходимо четко дать им определение, характеристику и принципы обозначения.


План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация (опыт действия фитонцидов чеснока на бактерии; опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом стандартных индикационных дисков; опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом серийных разведений в МПБ) - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы – 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Оценить результаты определения чувствительности к антибиотикам штаммов *E.coli* и *S.aureus* методом стандартных индикационных дисков, пользуясь табличными данными. Результаты оформить в виде таблицы.
2. Оценить результаты определения чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений в МПБ. Результаты оформить в виде схемы.
3. Оформить в протоколе опыт действия фитонцидов чеснока на бактерии.
4. Постановка опыта по определению чувствительности бактерий к антибиотикам штаммов *E.coli* и *S.aureus* методом стандартных индикационных дисков и оценка результатов на следующем занятии.

Контрольные вопросы:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 21 -</p>
--	---	---	---------------

1. Химиотерапия. Определение, классификация химиотерапевтических препаратов. Химиотерапевтический индекс.
2. Антибиотики. Определение, классификация и характеристика основных групп, единицы активности.
3. Механизмы антимикробного действия.
4. Осложнения при химиотерапии.
5. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. Определение, механизмы, виды.
6. Методы преодоления лекарственной устойчивости бактерий.
7. Принципы рациональной химиотерапии.
8. Методы определения чувствительности микробов к антибиотикам.
9. Характеристика фитонцидов и бактериоцинов.



ЗАНЯТИЕ № 12

Тема: Нормальная микрофлора организма человека, ее значение. Формирование микрофлоры у детей. Дисбактериоз, условия развития, профилактика.

Цель работы: научиться методам определения микрофлоры организма человека.

Задачи: усвоить значение нормальной микрофлоры в жизнедеятельности человека, уметь оценить результаты методов определения микрофлоры различных органов и полостей организма человека.

Теоретическая часть:

При изучении микрофлоры тела человека останавливается на микрофлоре кожи и слизистых оболочек, полости рта, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых органов, дыхательной системы.

При разборе микрофлоры полости рта следует обратить внимание на причины обильного заселения микроорганизмами этого биотопа. При изучении микрофлоры ЖКТ студентам надо знать, в каких отделах особенно много микробов и почему. При разборе микрофлоры дыхательных путей обращает внимание на то, какие отделы в норме микробы заселяют, а какие нет.

Подробно останавливаются на формировании и значении микрофлоры человека в норме и патологии. Обращает внимание на понятие «дисбактериоз» и условия его развития и профилактики.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация (таблица с рисунком «Микроорганизмы из зубного налета, окраска по Граму», таблица «Нормальная микрофлора организма человека», таблица «Показатели нормальной микрофлоры кишечника здоровых детей и взрослых») - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:


1. Учет результатов на чашке с МПА с посевом волоса, отпечатков пальцев рук и губ; изучение культуральных признаков и приготовление мазков из различных колоний, окраска по Граму, микроскопия и зарисовка;
2. Записать в протокол представителей нормальной микрофлоры в зависимости от биотопа.
3. Зарисовать рисунок «Микроорганизмы из зубного налета, окраска по Граму»;
4. Микроскопия и зарисовка готовых препаратов палочки Дедерлейна, окрашенных по Граму.
5. Записывают в протокол классификацию дисбактериоза по этиологическому признаку;
6. Оформляют микробиологическую диагностику дисбактериоза в виде схемы.

Вопросы для обсуждения:

1. Понятие «биоценоз». Понятие «факультативные и облигатные микроорганизмы».
2. Формирование микрофлоры человека, возрастные особенности.
3. Различные виды симбиотических взаимоотношений.
4. Микрофлора кожи и слизистых оболочек.
5. Микрофлора дыхательных путей.
6. Микрофлора полости рта.
7. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 23 -</p>
--	---	---	---------------

8. Микрофлора мочеполовой системы.
9. Значение нормальной микрофлоры.
10. Понятие «дисбактериоз». Условия его развития и профилактика.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 24 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 13

Тема: Коллоквиум по пройденным темам.

Цель работы: контроль качества знаний по пройденным темам:


1. «Генетика микроорганизмов. Организация генетического материала у бактерий»,
2. «Санитарная микробиология. Микрофлора воды, воздуха, почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы. Микрофлора молока и молочных продуктов»,
3. «Действие факторов внешней среды на микроорганизмы. Воздействие физических и химических факторов. Стерилизация и дезинфекция. Асептика и антисептика. Использование в педиатрической практике»,
4. «Действие биологических факторов на микроорганизмы. Химиотерапевтические средства, механизмы их действия. Антибиотики: классификация, механизм действия. Определения чувствительности к антибиотикам. Осложнения антибиотикотерапии и их предупреждение»,
5. «Нормальная микрофлора организма человека, ее значение. Формирование микрофлоры у детей. Дисбактериоз, условия развития, профилактика».

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) -10 мин.
2. Проведение коллоквиума - 125 мин.
3. Подведение итогов коллоквиума - 20 мин.
4. Проверка и уборка рабочих мест - 15 мин.

Контрольные вопросы:

1. Определение понятий «генотип» и «фенотип». Генетический аппарат бактерий.
2. Внехромосомные факторы наследственности: плазмиды – их локализация, виды и функциональная роль.
3. Внехромосомные факторы наследственности: транспозоны и IS-последовательности – их локализация и функциональная роль.
4. Формы изменчивости микроорганизмов – мутации: определение, классификация, типы и виды.
5. Формы изменчивости микроорганизмов – модификационная: определение, типы и виды.
6. Способы репарации и их характеристики.
7. Формы рекомбинации: гомологичная, сайт-специфическая, незаконная.
8. Конъюгация у бактерий: условия, механизм.
9. Трансдукция у бактерий: условия, типы и механизмы.
10. Трансформация у бактерий: условия и механизм.
11. Практическое значение генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.
12. Микрофлора воздуха. Микробное число, методы определения, санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.
13. Микрофлора воды. Показатели фекального загрязнения, микробное число, определение.
14. Санитарно-показательные микроорганизмы воды. Коли-титр, коли-индекс.
15. Методы определения коли-титра и коли-индекса воды. Санитарно-гигиенические нормы для водопроводной воды.
16. Микрофлора почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы, микробное число почвы, методы определения.
17. Микрофлора пищевых продуктов, молока и молочных продуктов. Санитарные показатели и методы их определения

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 25 -</p>
--	---	---	---------------

18. Характеристика влияния физических факторов на микроорганизмы.
19. Влияние химических факторов на микроорганизмы.
20. Понятие о стерилизации. Методы стерилизации.
21. Подготовка лабораторной посуды к стерилизации.
22. Понятие о дезинфекции. Классификация антисептиков по механизму действия и химической природе. Требования к дезинфицирующим веществам.
23. Понятие об асептике и антисептике. Использование в педиатрической практике
24. Химиотерапия. Определение, классификация химиотерапевтических препаратов. Химиотерапевтический индекс.
25. Антибиотики. Определение, классификация и характеристика основных групп, единицы активности.
26. Механизмы антимикробного действия.
27. Осложнения при химиотерапии.
28. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. Определение, механизмы, виды. Методы преодоления лекарственной устойчивости бактерий.
29. Принципы рациональной химиотерапии.
30. Методы определения чувствительности микробов к антибиотикам.
31. Характеристика фитонцидов и бактериоцинов.
32. Понятие «биоценоз». Понятие «факультативные и облигатные микроорганизмы».
33. Формирование микрофлоры человека, возрастные особенности.
34. Различные виды симбиотических взаимоотношений.
35. Микрофлора кожи и слизистых оболочек.
36. Микрофлора дыхательных путей.
37. Микрофлора полости рта.
38. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.
39. Микрофлора мочеполовой системы.
40. Значение нормальной микрофлоры. Понятие «дисбактериоз». Условия его развития и профилактика.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 26 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 14

Тема: Учение об инфекции. Формы инфекций, условия развития инфекционного процесса. Патогенность, вирулентность. Характеристика бактериальных токсинов.

Цель работы: научиться методам определения токсинов и ферментов патогенности бактерий.

Задачи: уметь оценить результаты изучения патогенетических факторов микроорганизмов, овладеть этапами биологического метода исследования.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на разную интерпретацию понятий «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь». Поясняет отличия инфекционных болезней от соматических. Делает акцент на то, что патогенность микроорганизма обусловлена адгезивностью, инвазивностью, токсигенностью и способностью подавлять фагоцитоз. Обращает внимание на биологический метод, его задачи, цель, этапы.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация (опыт по определению гемолизина на 5% КА; опыт по обнаружению ферментов плазмокоагулазы, гиалуронидазы, лецитиназы) - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Оценить результаты и записать в протокол определение ферментов патогенности стафилококков: плазмокоагулазы, гиалуронидазы, лецитиназы.
2. Оформить в протокол определение токсина гемолизина.
3. Постановка опыта на обнаружение фермента плазмокоагулазы и оценка результатов в конце занятия.
4. Оформить в протокол биологический метод, его этапы и протокол вскрытия.

Контрольные вопросы:

1. Инфекция - определение, виды инфекций.
2. Инфекционный процесс, условия его возникновения. Инфекционная болезнь.
3. Отличия инфекционного заболевания от соматического. Стадии инфекционного заболевания.
4. Роль микроба в возникновении инфекции. Патогенность и вирулентность.
5. Факторы патогенности микроорганизмов. Понятие об адгезивности, инвазивности, агрессивности, токсигенности.
6. Характеристика токсинов (экзотоксинов и эндотоксинов).
7. Классификация экзотоксинов по механизму действия. Получение анатоксина.
8. Характеристика ферментов инвазии, способы их обнаружения.
9. Биологический метод исследования, его цель и этапы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 27 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 15

Тема: Прикладная иммунология. Факторы и механизмы неспецифической противоинойфекционной защиты организма.

Цель работы: изучить факторы и механизмы неспецифической противоинойфекционной защиты организма.

Задачи: усвоить роль факторов неспецифической резистентности в противоинойфекционной защите организма, освоить методы определения лизоцима слюны и показателей фагоцитарной активности.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на различные факторы, обуславливающие неспецифическую резистентность.

Поясняет свойства и функции клеток, осуществляющих фагоцитоз. Объясняет различные пути активации комплемента (классический, альтернативный и лектин-зависимый) и его функции.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия)- 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация микропрепаратов «завершенный и незавершенный фагоцитоз» - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Определение титра лизоцима слюны. Оформление хода работы и результатов в протокол.
2. Записать в протокол функции комплемента и свойства интерферона, проведение опсоно-фагоцитарной реакции и показателей фагоцитарной активности.
3. Зарисовать незавершенный фагоцитоз гонококка.

Контрольные вопросы:

1. Иммуитет, определение; виды иммуитета.
2. Факторы неспецифической резистентности. Барьерные факторы видового иммуитета (кожа, слизистые).
3. Клеточные факторы видового иммуитета.
4. Учение о фагоцитозе. Стадии и виды фагоцитоза. Показатели оценки (фагоцитарный показатель и опсонический индекс).
5. Гуморальные факторы неспецифической резистентности: комплемент, интерферон, лизоцим.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 28 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 16

Тема: Факторы специфического иммунитета. Антигены микроорганизмов и вирусов. Взаимодействия антигенов с антителами.

Цель работы: изучить факторы и механизмы специфической противоинойфекционной защиты организма.

Задачи: усвоить роль антигенов и антител, изучить антигены различных микроорганизмов, усвоить механизмы иммунного ответа.

Теоретическая часть:

В процессе объяснения преподаватель останавливается на зависимости антигенных свойств от таких характеристик, как чужеродность, антигенность, иммуногенность и специфичность.

Обращает внимание на типы антигенной специфичности (видовую, групповую, типовую, органную и гетероспецифичность). Подробно останавливаемся на антителах: их строение, классификации, виды, значение.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц «Строение иммуноглобулинов», «Механизмы иммунного ответа» - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Зарисовать строение мономера иммуноглобулина
2. Оформить в виде таблицы дифференциальные признаки различных классов иммуноглобулинов.

Контрольные вопросы:

1. Иммунная система организма человека
2. Определение понятия «антиген». Условия антигенности, виды антигенов.
3. Антигены микробной клетки.
4. Классификация и характеристика иммуноглобулинов, строение, свойства.
5. Взаимодействие антител с антигенами. Механизмы иммунного ответа.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 29 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 16 (продолжение)

Тема: Сероидентификация и серодиагностика инфекционных заболеваний. Серологический метод исследования.

Цель работы: изучить серологический метод исследования.

Задачи: усвоить способы постановки и учет результатов различных серологических реакций, их диагностическое значение.

Теоретическая часть:

Поясняет методы постановки серологических реакций.

Обращает внимание на разную интерпретацию понятий «серодиагностика» и «сероидентификация».

Преподаватель обращает внимание студентов на разновидности реакций: их ингредиенты, участвующие в реакциях, способы постановки и учет результатов.

Необходимо разобрать механизм реакций, учет результатов, диагностическое значение.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 45 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц и реакций по теме занятия - 20 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 20 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. В тетрадь записать схемы постановки простых и сложных серологических реакций, учесть их результаты и отметить в протоколе в виде таблицы.
2. Постановка РСК. В тетрадь записать таблицу, схему титрования комплемента, рассчитать рабочую дозу. Учесть результаты РСК.
3. Зарисовать схемы постановки реакций: РИФ, ИФА, РИА; иммуноблоттинг.

Контрольные вопросы:

1. Понятие «сероидентификация» и «серодиагностика», основные ингредиенты и их получение.
2. Условия, фазы и требования к серологическим реакциям.
3. Реакции иммунного лизиса: ингредиенты, способы постановки.
4. Реакция бактериолиза. Феномен Исаева-Пфейффера.
5. Реакция гемолиза.
6. РСК компоненты.
7. РСК механизм, применения.
8. РИФ, цель применения. Используемые красители.
9. Непрямой метод РИФ.
10. Прямой метод РИФ.
11. Радиоиммунный анализ.
12. Твердофазный иммуно-ферментный анализ.
13. Иммуноблоттинг.
14. Реакция агглютинации. Виды агглютинации, методы постановки реакции. Практическое использование.
15. Реакция преципитации, механизм. Методы постановки, практическое применение.



ЗАНЯТИЕ № 17

Тема: Иммунобиологические препараты: вакцины, сыворотки. Приготовление и назначение. Коллоквиум по пройденным темам.

Цель работы: изучить иммунобиологические препараты и их значение в профилактике, диагностике и лечении инфекционных заболеваний; контроль качества знаний по пройденным темам.

Задачи: усвоить получение и назначение различных вакцин, сывороток и анатоксинов; изучить национальный календарь профилактических прививок.

Теоретическая часть:

Преподаватель должен показать ампулы с готовыми вакцинами БЦЖ, АКДС, АДС и т.д. Необходимо продемонстрировать агглютинирующие и преципитирующие сыворотки. Ознакомить с прививочным календарем ВОЗ.

Обратить внимание на необходимость применения иммунодиагностических сывороток. Объяснить студентам, какие вещества могут быть использованы в качестве адъювантов.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 5 мин.
2. Опрос по теме - 40 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация (вакцин, диагностических и лечебных сывороток, анатоксинов; таблицы «Классификация вакцин»; таблицы «Классификация лечебно-профилактических сывороток и этапы их получения») - 10 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 30 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 10 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 5 мин.
7. Коллоквиум по пройденным темам – 60 мин.
8. Подведение итогов коллоквиума – 10 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записать классификацию сывороток и этапы их получения.
2. Записать классификацию вакцин.
3. Записать календарь национальных прививок.

Контрольные вопросы:


1. Вакцины. Определение. Современная классификация.
2. Аутовакцины. Получение и применение.
3. Требования, предъявляемые к вакцинным препаратам.
4. Живые вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки.
5. Инактивированные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки.
6. Генно-инженерные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки.
7. Анатоксины. Определение, получение, применение. Виды анатоксинов.
8. Лечебные и диагностические сыворотки. Получение, применение. Классификация сывороток.
9. Гамма-глобулины. Принципы получения, применение.

Контрольные вопросы по коллоквиуму:

1. Инфекция - определение, виды инфекций.
2. Инфекционный процесс, условия его возникновения. Инфекционная болезнь.
3. Отличия инфекционного заболевания от соматического. Стадии инфекционного заболевания.
4. Роль микроба в возникновении инфекции. Патогенность и вирулентность.
5. Факторы патогенности микроорганизмов. Понятие об адгезивности, инвазивности, агрессивности, токсигенности.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 31 -</p>
--	---	---	---------------

6. Характеристика токсинов (экзотоксинов и эндотоксинов).
7. Классификация экзотоксинов по механизму действия. Получение анатоксина.
8. Характеристика ферментов инвазии, способы их обнаружения.
9. Биологический метод исследования, его цель и этапы.
10. Иммуитет, определение; виды иммунитета.
11. Факторы неспецифической резистентности. Барьерные факторы видового иммунитета (кожа, слизистые).
12. Клеточные факторы видового иммунитета.
13. Учение о фагоцитозе. Стадии и виды фагоцитоза. Показатели оценки (фагоцитарный показатель и опсонический индекс).
14. Гуморальные факторы неспецифической резистентности.
15. Иммунная система организма человека
16. Определение понятия «антиген». Условия антигенности, виды антигенов.
17. Антигены микробной клетки.
18. Классификация и характеристика иммуноглобулинов, строение, свойства.
19. Взаимодействие антител с антигенами. Механизмы иммунного ответа.
20. Понятие «сероидентификация» и «серодиагностика», основные ингредиенты и их получение.
21. Условия, фазы и требования к серологическим реакциям.
22. Реакции иммунного лизиса: ингредиенты, способы постановки.
23. Реакция бактериолиза. Феномен Исаева-Пфейффера.
24. Реакция гемолиза.
25. РСК компоненты.
26. РСК механизм, применения.
27. РИФ, цель применения. Используемые красители.
28. Непрямой метод РИФ.
29. Прямой метод РИФ.
30. Радиоиммунный анализ.
31. Твердофазный иммунно-ферментный анализ.
32. Иммуноблоттинг.
33. Реакция агглютинации. Виды агглютинации, методы постановки реакции. Практическое использование.
34. Реакция преципитации, механизм. Методы постановки, практическое применение.
35. Вакцины. Определение. Современная классификация.
36. Аутовакцины. Получение и применение.
37. Требования, предъявляемые к вакцинным препаратам.
38. Живые вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки
39. Инактивированные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки.
40. Генно-инженерные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки.
41. Анатоксины. Определение, получение, применение. Виды анатоксинов.
42. Лечебные и диагностические сыворотки. Получение, применение. Классификация сывороток. Гамма-глобулины. Принципы получения, применение.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 32 -</p>
--	---	---	---------------

Частный курс **ЗАНЯТИЕ № 1**

Тема: Введение в частную медицинскую микробиологию. Возбудители бактериальных кишечных инфекций.

Цель работы: усвоить основные методы диагностики инфекционных заболеваний и принципы диагностики бактериальных кишечных инфекций.

Задачи: узнать бактерий, имеющих медицинское значение; освоить основные методы исследования различных биосубстратов человека.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание студентов на общие свойства (морфологические, тинкториальные, культуральные и др.), характерные для бактерий, имеющих медицинское значение, и представителей бактериальных кишечных инфекций. Делаем акцент на показания к бактериологическому исследованию различных биосубстратов человека.

Подробно останавливается на питательных средах (дифференциально-диагностических и элективных), используемых для культивирования возбудителей кишечных инфекций, демонстрирует и дает описание их состава. Демонстрация - ДДС: Эндо, Левина, Плоскирева, ВСА; элективные питательные среды: Рапопорта, селенитовый бульон; «пестрый» ряд Гисса, , Ресселя, Клиглера – биохимическая активность бактерий; таблица – «Классификация семейства Enterobacteriaceae»

Акцентирует внимание на диагностике кишечных инфекций в зависимости от стадий патогенеза.

Знакомит с препаратами, применяемыми для диагностики, лечения и профилактики кишечных инфекций (диагностикумы, диагностические сыворотки, бактериофаг, вакцины, пробиотики и пребиотики).

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:


1. Познакомится с классификацией семейства энтеробактерий, занести в протокол.
2. Изучить культуральные свойства на средах Эндо, ВСА, Рапопорта и биохимические свойства на средах Гисса, Ресселя, Клиглера.
3. Посмотреть и зарисовать демонстрационные мазки из чистых культур кишечных бактерий.
4. Приготовить микропрепараты из подозрительных колоний со среды Эндо.
5. Оформить схему бактериологического исследования кишечных инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Основные задачи и цели частной микробиологии.
2. Этиологическая структура инфекционных заболеваний.
3. Материал для исследования – классификация, требования и оформление.
4. Методы микробиологической диагностики.
5. Показания к бактериологическому исследованию различных биосубстратов человека.
6. Классификация и общая характеристика возбудителей острых кишечных инфекций.
7. Методы лабораторной диагностики острых кишечных инфекций.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 33 -</p>
--	---	---	---------------

8. Лечение и профилактика острых кишечных инфекций.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 34 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 2

Тема: Возбудители бактериальной дизентерии: характеристика шигелл, принципы лабораторной диагностики, лечения и профилактики. Особенности этиопатогенеза у детей. Эшерихиозы – биологические свойства возбудителей, этиопатогенез, лабораторная диагностика.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа шигеллеза и эшерихиоза.

Задачи: знать биологию возбудителей дизентерии и эшерихиоза; лабораторную диагностику дизентерии и эшерихиозов; интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа копрокультуры; оценить результаты антибиотикограмм; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данных болезней.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание студентов на классификацию возбудителей шигелл и их видовую идентификацию. Отмечает выработку экзотоксина шигеллами Григорьева-Шига.

Преподаватель подробно останавливается на методах лабораторной диагностики дизентерии (разбор бактериологического метода по этапам). Отмечает использование кератоконъюнктивальной пробы Шереня и кожно-аллергической пробы Цуверкалова в диагностике шигеллезов.

Подробно останавливаемся на 4-х основных группах эшерихиозов (ЭТКП, ЭИКП, ЭТЖП, ЭГКП) и дает их характеристику, поясняет методы лабораторной диагностики. Подчеркивает необходимость сероидентификации эшерихий с помощью диагностических сывороток.

Делает акцент на роли экзотоксина и эндотоксина в патогенезе данных инфекций. Демонстрация: среды Эндо и Левина с 1ас+ и 1ас-колониями. «Пестрый» ряд Гисса с биохимической активностью, ср. Ресселя, развернутая реакция агглютинации - «Дизентерийный Видаль».

Таблицы: «Классификация шигелл», «Схема исследования при дизентерии», «Схема исследования при энтероколитах».


Препараты для лабораторной диагностики и специфической профилактики дизентерии и эшерихиоза.

Порядок проведения занятия:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 10 мин.

Содержание отчета студентов:


1. Познакомиться с классификацией шигелл и эшерихий, схемой исследования при дизентерии и эшерихиозе.
2. Изучить характер роста шигелл и эшерихий на средах Эндо, Левина.
3. Приготовить микропрепараты из подозрительных колоний со среды Эндо.
4. Изучить биохимическую активность культуры на средах Ресселя и Гисса.
5. Поставить ориентировочные реакции агглютинации со специфическими монорецепторными дизентерийными и эшерихиозными сыворотками. Полученные данные занести в протокол.
6. Изучить серологический метод исследования при дизентерии («Дизентерийный Видаль»), полученные данные занести в протокол.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 35 -</p>
--	---	---	---------------

7. Оформить протокол бактериологического исследования испражнений больного на дизентерию и эшерихиоз. Зарисовать микропрепараты.

Контрольные вопросы:

1. Классификация возбудителей дизентерии и их микробиологическая характеристика.
2. Эпидемиология, патогенез и клиника дизентерии. Особенности у детей.
3. Лабораторная диагностика дизентерии.
4. Препараты для лечения и профилактики дизентерии.
5. Биологические свойства возбудителей кишечных эшерихиозов.
6. Эпидемиология, патогенез и клиника эшерихиозов.
7. Микробиологическая диагностика эшерихиозов.
8. Специфическое лечение и профилактика эшерихиозов.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 36 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 3

Тема: Сальмонеллы брюшного тифа и паратифов А и В. Сальмонеллезы. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа брюшного тифа и паратифа, сальмонеллезов.

Задачи: знать биологию возбудителей и лабораторную диагностику; интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа копрокультуры, гемокультуры, уринокультуры; оценить результаты антибиотикограмм; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данных болезней.

Теоретическая часть:

Подробно останавливается на питательных средах (дифференциально-диагностических и элективных), используемых для культивирования сальмонелл, дает описание их состава. Акцентирует внимание на диагностике брюшного тифа в зависимости от стадий патогенеза; поясняет схемы выделения гемокультуры, копрокультуры, серодиагностику брюшного тифа («инфекционный, анамнестический и прививочный Видаль»), диагностику брюшнотифозного бактерионосительства (РНГА с эритроцитарным Vi-диагностикумом).

Подробно разбираем лабораторную диагностику сальмонеллезов и их возбудителей. Знакомимся с препаратами, применяемыми для диагностики, лечения и профилактики брюшного тифа и паратифа, сальмонеллезов (диагностикумы, сальмонеллезные диагностические сыворотки, брюшнотифозный бактериофаг, вакцины).


Демонстрация: Элективные питательные среды (желчный бульон, среда Рапопорта), среды для изучения биохимической активности (ср. Гисса, ср. Ресселя, ср. Клиглера). Посевы на среде Эндо, ВСА, Рапопорта. Реакция Видалья. Таблицы: «Схема исследования при диагностике брюшного тифа и паратифов», «Схема выделения гемокультуры», «Классификация сальмонелл» (схема Кауфмана-Уайта), «Схема лабораторной диагностики сальмонеллезов».

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить культуральные свойства сальмонелл на средах Эндо, ВСА, Рапопорта и биохимические свойства на средах Гисса, Ресселя, Клиглера.
2. Посмотреть и зарисовать демонстрационные мазки из чистых культур брюшнотифозных бактерий.
3. Приготовить микропрепараты из подозрительных колоний со среде Эндо.
4. Постановка ориентировочной реакции агглютинации на предметном стекле с монорецепторными сыворотками S.typhi, S.paratyphi A, S.paratyphi B. Полученные данные занести в протокол.
5. Оформить протокол бактериологического исследования крови, испражнений и мочи при брюшном тифе и паратифе.
6. Учесть результаты реакции Видалья; занести в протокол схему постановки реакции Видалья.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 37 -</p>
--	---	---	---------------

7. Оформить протокол бактериологического исследования испражнений и остатков пищи при сальмонеллезе.

Контрольные вопросы:

1. Характеристика возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
2. Эпидемиология, патогенез и клиника брюшного тифа и паратифов А и В.
3. Методы лабораторной диагностики брюшного тифа и паратифов А и В в различные сроки заболевания (бактериологический и серологический).
4. Лечение и профилактика брюшного тифа и паратифов А и В.
5. Характеристика возбудителей сальмонеллезов.
6. Эпидемиология, патогенез и клиника различных форм сальмонеллезов. Роль энтеротоксинов в возникновении диарейного синдрома
7. Методы лабораторной диагностики сальмонеллезов.
8. Лечение и профилактика сальмонеллезов.



ЗАНЯТИЕ № 4

Тема: Холера. Биологические свойства возбудителей, этиопатогенез заболевания. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. Коллоквиум по пройденным темам.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа холеры.

Задачи: знать биологию возбудителей и лабораторную диагностику; интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа; оценить результаты антибиотикограмм; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии холеры.

Теоретическая часть:

Обращаем внимание студентов на возбудителей холеры, относящихся к серогруппам O1 (*V.cholerae* и *V.eltor*) и O139 (Bengal), разбираем биологические свойства вибрионов различных серогрупп.

Останавливается на методах лабораторной диагностики холеры (классической и ускоренной).

Демонстрация: рост на 1% Пептонной воде и щелочном агаре, триада Хейберга: манноза, сахароза, арабиноза; ускоренный метод Ермольевой; проба с полимиксином; метод бактериофагии с бактериофагами *V.eltor* и фагом «С»; гемолиз бараньих эритроцитов; Препараты для диагностики, лечения и профилактики холеры.

Таблицы: «Схема лабораторной диагностики холеры», «Дифференциальные свойства вибрионов».

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) — 10 мин.
2. Опрос по теме - 100 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 10 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:


1. Занести в протокол метод ускоренной диагностики холеры.
2. Оформить бактериологического исследования испражнений и рвотных масс больного холерой.
3. Записать дифференциальные признаки *V.cholerae* и *V.eltor*. Зарисовать вибриона.

Контрольные вопросы:


1. Классификация вибрионов. Биология возбудителей.
2. Эпидемиология, патогенез и клиника холеры.
3. Методы лабораторной диагностики холеры.
4. Бактериологический метод исследования холеры.
5. Серологический метод и биологическая проба.
6. Ускоренная диагностика холеры.
7. Лечение и профилактика холеры.

Контрольные вопросы к коллоквиуму:

1. Основные задачи и цели частной микробиологии.
2. Этиологическая структура инфекционных заболеваний.
3. Материал для исследования – классификация, требования и оформление.
4. Методы микробиологической диагностики.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 39 -</p>
--	---	---	---------------

5. Показания к бактериологическому исследованию различных биосубстратов человека.
6. Классификация и общая характеристика возбудителей острых кишечных инфекций.
7. Методы лабораторной диагностики острых кишечных инфекций.
8. Лечение и профилактика острых кишечных инфекций.
9. Классификация возбудителей дизентерии и их микробиологическая характеристика.
10. Эпидемиология, патогенез и клиника дизентерии.
11. Лабораторная диагностика дизентерии.
12. Препараты для лечения и профилактики дизентерии.
13. Биологические свойства возбудителей кишечных эшерихиозов.
14. Эпидемиология, патогенез и клиника эшерихиозов.
15. Микробиологическая диагностика эшерихиозов.
16. Специфическое лечение и профилактика эшерихиозов.
17. Характеристика возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
18. Эпидемиология, патогенез и клиника брюшного тифа и паратифов А и В.
19. Методы лабораторной диагностики брюшного тифа и паратифов А и В в различные сроки заболевания (бактериологический и серологический).
20. Лечение и профилактика брюшного тифа и паратифов А и В.
21. Характеристика возбудителей сальмонеллезов.
22. Эпидемиология, патогенез и клиника различных форм сальмонеллезов. Роль энтеротоксинов в возникновении диарейного синдрома
23. Методы лабораторной диагностики сальмонеллезов.
24. Лечение и профилактика сальмонеллезов.
25. Классификация вибрионов. Биология возбудителей.
26. Эпидемиология, патогенез и клиника холеры.
27. Методы лабораторной диагностики холеры.
28. Бактериологический метод исследования холеры.
29. Серологический метод и биологическая проба.
30. Ускоренная диагностика холеры.
31. Лечение и профилактика холеры.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 40 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 5

Тема: Патогенные кокки. Стафилококки. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа стафилококковых инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и лабораторную диагностику; интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа гнойных стафилококковых заболеваний; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Ознакомиться со схемой исследования при кокковых заболеваниях по таблице. Показать и дать изучить рост стафилококка на кровяном агаре, ЖСА, МПБ. Познакомиться с исследованием пищевого продукта на наличие патогенных стафилококков - демонстрация техники приготовления суспензии из исследуемого продукта (творога) и посева на чашки с кровяным МПА и желточно-солевым МПА. Таблицы по лабораторной диагностике стафилококковых инфекций и дифференциальным признакам стафилококков.

Изучить препараты, применяемые для диагностики и лечения кокковых заболеваний.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) — 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить демонстрационный препарат из чистых культур стафилококков, зарисовать.
2. Изучить демонстрационный посев гноя на ЖСА.
3. Приготовить мазок с ЖСА, окрасить по Граму, микроскопировать.
4. Учитывают результаты реакции плазмокоагуляции и зарисовать.
5. Студенты производят посев мазков из зева на ЖСА. Оформление протокола анализа.
6. Оформление протокола исследования гноя.
7. Зарисовка «лецитиназного» венчика и гемолиза в тетрадах.

Контрольные вопросы:

1. Патогенные кокки - общая характеристика, таксономия.
2. Грамположительные кокки. Стафилококки: морфология, тинкториальные, культуральные и антигенные свойства.
3. Биохимические свойства, токсины и ферменты «агрессии».
4. Способы обнаружения токсинов и ферментов «агрессии».
5. Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций. Материал для исследования (при гнойных инфекциях, при заболеваниях, протекающих по типу пищевых токсикоинфекций).
6. Препараты, применяемые для профилактики и лечения стафилококковых инфекций.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 41 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 6

Тема: Стрептококки, пневмококки. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа стрептококковых инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и лабораторную диагностику; интерпретировать полученные результаты бактериологического и биологического анализа; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Познакомиться со схемой исследования при стрептококковых заболеваниях по таблице. Изучить рост стрептококка на кровяном агаре, МПБ. Изучить препараты, применяемые для диагностики, лечения и профилактики стрептококковых заболеваний.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) — 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить демонстрационный препарат из чистых культур стрептококков, зарисовать.
2. Учет результатов посевов предыдущего занятия: изучение культуральных свойств выросших колоний; изучение морфологических и тинкториальных свойств колоний (приготовление мазков и окраска их по Грамму), оформление протокола исследования.
3. Оформление протокола бактериологического исследования стрептококковых и пневмококковых инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Общие сведения о стрептококковых инфекциях (сепсис, эндокардит, скарлатина, пневмонии и др.).
2. Клиническая картина, носительство, острые стрептококковые инфекции.
3. Характеристика возбудителей (морфологические, тинкториальные, культуральные свойства).
4. Токсины и ферменты стрептококков.
5. Классификация стрептококков по гемолитическому признаку и антигенной структуре.
6. Техника взятия материала из зева, носа и кожных поражений для исследования.
7. Лабораторная диагностика стрептококковых заболеваний.
8. Идентификация стрептококков и пневмококков, дифференциация с энтерококками.
9. Методы лечения и профилактики стрептококковой инфекции.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 42 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 7

Тема: Грамотрицательные кокки – гонококки и менингококки. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа менингококковых и гонококковых инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Познакомить студентов со схемой исследования при менингококковых инфекциях. Познакомить со схемой исследования при гонококковых инфекциях. Познакомить с техникой забора материала при исследовании на менингококковое и гонококковое носительство.

Порядок проведения занятия:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) — 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучение демонстрационных препаратов гонококка и менингококка в гное. Зарисовка.
2. Учет результатов демонстрационной РСК при хронической гонорее.
3. Изучение препаратов, применяемых для диагностики и лечения менингококковых и гонококковых заболеваний.
4. Оформление протокола лабораторного исследования менингококковых и гонококковых инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства менингококков.
2. Токсины и ферменты агрессии менингококков.
3. Заболевания человека, вызываемые менингококками, значение бактерионосительства.
4. Лабораторная диагностика менингококковых заболеваний.
5. Специфическая профилактика и лечение менингококковых заболеваний.
6. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства гонококков.
7. Токсины и ферменты агрессии гонококков.
8. Заболевания, вызываемые гонококками.
9. Лабораторная диагностика острой гонореи.
10. Лабораторная диагностика хронической гонореи.
11. Специфическая профилактика и лечение гонококковых заболеваний.



ЗАНЯТИЕ № 8

Тема: Воздушно-капельных инфекций. Возбудители дифтерии и коклюша. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. Микробиологическая диагностика, специфическое профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа дифтерии и коклюша.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Демонстрация определения токсигенности возбудителя дифтерии методом диффузной преципитации в агаре по Оухтерлони.

Ознакомить студентов со схемой исследования при дифтерии по таблице. Ознакомить студентов со схемой исследования при коклюше по таблице.

Изучить препараты, применяемые для диагностики и лечения дифтерии, коклюша.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Микроскопия демонстрационного препарата дифтерийной палочки в чистой культуре (по Нейссеру). Зарисовка.
2. Изучение характера роста на сывороточных средах.
3. Зарисовка метода определения токсигенности дифтерийной палочки.
4. Изучение и зарисовка реакции на цистиназу (проба Пизу),
5. Изучение и зарисовка реакции на уреазу (проба Закса).
6. Изучение препаратов, применяющихся для диагностики, специфической профилактики и лечения дифтерии.
7. Бактериоскопия мазков из культуры *B. pertussis*. Зарисовка.
8. Ознакомление с препаратами для специфической профилактики и лечения коклюша.
9. Оформление протокола лабораторного исследования дифтерии и коклюша.


Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика и классификация коринебактерии.
2. Источник заражения, пути передачи инфекции, патогенез заболевания.
3. Материал для исследования, методы лабораторной диагностики.
4. Бактериологический метод исследования дифтерии.
5. Характеристика экзотоксина и метод определения токсигенности дифтерийной палочки.
6. Специфическая профилактика и терапия дифтерии.
7. Общая характеристика и классификация бордетелл.
8. Антигенная структура и факторы патогенности возбудителя коклюша.
9. Источник инфекции, пути передачи, патогенез заболевания.
10. Методы лабораторной диагностики. Правила взятия материала; реакции, применяемые для серологической диагностики коклюша.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 44 -</p>
--	---	---	---------------

11. Отличия возбудителя коклюша и паракоклюша.

12. Препараты для специфической профилактики и лечения коклюша.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 45 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 9

Тема: Патогенные микобактерии. Возбудители туберкулеза и лепры. Микробиологическая характеристика, заболевания, вызываемые ими. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение. Коллоквиум по пройденным темам.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа туберкулеза и лепры.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на биологические особенности микобактерий: строение клеточной стенки, образование L-форм, незавершенный фагоцитоз, условия культивирования, особенности иммунитета, особенности микроскопического исследования. Уделяем внимание методам обогащения мокроты, специфическую профилактику, лечение, аллергические пробы Манту, Пирке, Коха при туберкулезе. Изучаем особенности экологии, профилактики, лечения и лабораторной диагностики лепры.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 100 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 10 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Познакомиться со схемой исследования при туберкулезе по таблице.
2. Изучить характер роста туберкулезных бактерий на плотной среде.
3. Познакомиться с методом микрокультур Прайса - демонстрация преподавателя и рисунок по таблице, записать в протокол.
4. Микроскопия демонстрационных препаратов из мокроты больного туберкулезом и лепры, зарисовка.
5. Демонстрация препаратов, применяемых при диагностике и профилактике туберкулеза и лепры.
6. Записать схему лабораторного исследования при туберкулезе и лепре в протокол, сделать вывод.


Контрольные вопросы:

1. Таксономическое положение и общая характеристика возбудителей туберкулеза.
2. Этиопатогенез туберкулеза.
3. Особенности иммунитета при туберкулезе.
4. Специфическая профилактика туберкулеза. Аллергические пробы, применяемые при туберкулезе.
5. Особенности микроскопического исследования при туберкулезе.
6. Метод микрокультур Прайса, корд-фактор.
7. Бактериологическое и биологическое исследование при туберкулезе.
8. Биологические свойства возбудителя лепры.
9. Этиопатогенез и иммунитет при лепры.
10. Лабораторная диагностика лепры, лечение и профилактика.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 46 -</p>
--	---	---	---------------

Контрольные вопросы к коллоквиуму:

1. Патогенные кокки - общая характеристика, таксономия.
2. Грамположительные кокки. Стафилококки: морфология, тинкториальные, культуральные и антигенные свойства.
3. Биохимические свойства, токсины и ферменты «агрессии».
4. Способы обнаружения токсинов и ферментов «агрессии».
5. Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций. Материал для исследования (при гнойных инфекциях, при заболеваниях, протекающих по типу пищевых токсикоинфекций).
6. Препараты, применяемые для профилактики и лечения стафилококковых инфекций.
7. Общие сведения о стрептококковых инфекциях (сепсис, эндокардит, скарлатина, пневмонии и др.).
8. Клиническая картина, носительство, острые стрептококковые инфекции.
9. Характеристика возбудителей (морфологические, тинкториальные, культуральные свойства).
10. Токсины и ферменты стрептококков.
11. Классификация стрептококков по гемолитическому признаку и антигенной структуре.
12. Техника взятия материала из зева, носа и кожных поражений для исследования.
13. Лабораторная диагностика стрептококковых заболеваний.
14. Идентификация стрептококков и пневмококков, дифференциация с энтерококками.
15. Методы лечения и профилактики стрептококковой инфекции.
16. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства менингококков.
17. Токсины и ферменты агрессии менингококков.
18. Заболевания человека, вызываемые менингококками, значение бактерионосительства.
19. Лабораторная диагностика менингококковых заболеваний.
20. Специфическая профилактика и лечение менингококковых заболеваний.
21. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства гонококков.
22. Токсины и ферменты агрессии гонококков.
23. Заболевания, вызываемые гонококками.
24. Лабораторная диагностика острой гонореи.
25. Лабораторная диагностика хронической гонореи.
26. Специфическая профилактика и лечение гонококковых заболеваний.
27. Общая характеристика и классификация коринебактерии.
28. Источник заражения, пути передачи инфекции, патогенез заболевания.
29. Материал для исследования, методы лабораторной диагностики.
30. Бактериологический метод исследования дифтерии.
31. Характеристика экзотоксина и метод определения токсигенности дифтерийной палочки.
32. Специфическая профилактика и терапия дифтерии.
33. Общая характеристика и классификация бордетелл.
34. Антигенная структура и факторы патогенности возбудителя коклюша.
35. Источник инфекции, пути передачи, патогенез заболевания.
36. Методы лабораторной диагностики. Правила взятия материала; реакции, применяемые для серологической диагностики коклюша.
37. Отличия возбудителя коклюша и паракоклюша.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 47 -</p>
--	---	---	---------------

37. Препараты для специфической профилактики и лечения коклюша.
38. Таксономическое положение и общая характеристика возбудителей туберкулеза.
39. Этиопатогенез туберкулеза.
40. Особенности иммунитета при туберкулезе.
41. Специфическая профилактика туберкулеза. Аллергические пробы, применяемые при туберкулезе.
42. Особенности микроскопического исследования при туберкулезе.
43. Метод микрокультур Прайса, корд-фактор.
44. Бактериологическое и биологическое исследование при туберкулезе.
45. Биологические свойства возбудителя лепры.
46. Этиопатогенез и иммунитет при лепры.
47. Лабораторная диагностика лепры, лечение и профилактика.



ЗАНЯТИЕ № 10

Тема: Зооантропонозные инфекции: возбудители чумы и сибирской язвы: биологические свойства, этиопатогенез заболеваний, микробиологическая диагностика, специфическая профилактика и лечение.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа чумы и сибирской язвы.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание студентов на биологические свойства возбудителей зооантропонозных инфекций, культуральные особенности возбудителей чумы и сибирской язвы; использование биологического метода при лабораторной диагностике зооантропонозных инфекций, особенности серодиагностики и аллергических проб. Демонстрация таблиц: «Лабораторная диагностика чумы», «Лабораторная диагностика сибирской язвы».

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Познакомится со схемой исследования при диагностике чумы, занести ее в протокол.
2. Микроскопия и зарисовка готовых препаратов *Bacillus anthracis* в культуре и в органах, окрашенных по Граму.
3. Постановка реакции Асколи, зарисовка результата.
4. Записать в протокол схему лабораторного исследования при сибирской язве.
5. Изучить препараты, применяемые при диагностике, лечения и профилактики зооантропонозных инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика возбудителя чумы.
2. Этиопатогенез чумы, клинические формы.
3. Методы лабораторной диагностики чумы, специфическая профилактика чумы.
4. Общая характеристика возбудителя сибирской язвы.
5. Этиопатогенез сибирской язвы.
6. Методы лабораторной профилактики сибирской язвы, специфическая профилактика.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 49 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 11

Тема: Возбудители бруцеллеза и туляремии: биологические свойства, принципы лабораторной диагностики, специфическая профилактика и терапия.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа туляремии и бруцеллеза.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание студентов на биологические свойства возбудителей зооантропонозных инфекций, культуральные особенности возбудителей бруцеллеза и туляремии; использование биологического метода при лабораторной диагностике зооантропонозных инфекций; особенности серодиагностики при бруцеллезе и туляремии. Демонстрация реакций Хедлльсона и Райта. Таблицы: «Лабораторная диагностика бруцеллеза», «Лабораторная диагностика туляремии».

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Познакомится со схемой исследования при диагностике бруцеллеза, занести ее в протокол.
2. Записать в протокол схему лабораторного исследования при туляремии.
3. Микроскопия окрашенных мазков с туляремиными бактериями, зарисовать.
4. Микроскопия окрашенных мазков с бруцеллами, зарисовка.
5. Постановка и учет реакции Райта и Хеддельсона, зарисовка результатов.
6. Изучить препараты, применяемые при диагностике, лечения и профилактики зооантропонозных инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика возбудителей бруцеллеза.
2. Этиопатогенез бруцеллеза, иммунитет.
3. Методы лабораторной диагностики бруцеллеза, серологические реакции, применяемые при бруцеллезе.
4. Общая характеристика возбудителя туляремии.
5. Этиопатогенез туляремии, иммунитет.
6. Методы лабораторной диагностики туляремии.



ЗАНЯТИЕ № 12

Тема: Возбудители анаэробных инфекций: столбняка, ботулизма, газовой гангрены. Биологические свойства, лабораторная диагностика, специфическая профилактика и терапия.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа анаэробных инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; оценить результаты антибиотикограмм и факторов патогенности; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на биологические свойства патогенных анаэробов: образование спор, их расположение; продукцию экзотоксинов, биохимические особенности.

При изучении лабораторной диагностики особое внимание уделяется условиям культивирования, способам создания анаэробных условий, дается характеристика питательным средам, используемым для культивирования анаэробов.

Демонстрация: таблиц «Выделение чистых культур анаэробов», «Микробиологическая диагностика ботулизма», «Микробиологическая диагностика газовой гангрены».

Питательных сред: Китта-Тароцци, Вильсона-Блера, высокий столбик сахарного агара. Метод Фортнера.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) – 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация таблиц по теме - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Микроскопия готовых микропрепаратов анаэробов, зарисовать в протокол.
2. Ознакомиться с питательными средами: Китта-Тароцци, Вильсона-Блера; характером роста анаэробных микроорганизмов на этих питательных средах.
3. Ознакомиться со схемой микробиологической диагностики анаэробных инфекций.
4. Записать схему бактериологической диагностики столбняка, ботулизма и газовой гангрены в протокол.
5. Изучить реакцию нейтрализации токсина антитоксической сывороткой: схема постановки реакции, механизм реакции, учет результатов.

Вопросы для обсуждения:

1. Таксономическое положение, общая характеристика патогенных анаэробов.
2. Общая характеристика возбудителей газовой гангрены.
3. Лабораторная диагностика раневой анаэробной инфекции (газовой гангрены).
4. Специфическая профилактика и лечение газовой гангрены.
5. Общая характеристика возбудителя столбняка.
6. Лабораторная диагностика столбняка.
7. Специфическая профилактика и лечение столбняка.
8. Общая характеристика возбудителя ботулизма.
9. Лабораторная диагностика ботулизма.
10. Специфическая профилактика и лечение ботулизма.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 51 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 13

Тема: Спирохетозы: сифилис, лептоспироз, возвратный тиф. Микробиологическая характеристика возбудителей. Лабораторная диагностика. Коллоквиум по пройденным темам.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа спирохетозных инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на резистентность и распространенность бледной спирохеты, лептоспир и бореллий во внешней среде.

Подробно останавливается на источниках, путях передачи, механизмах заражения и цикличности заболеваний, вызванных спирохетами.

Акцентирует внимание на методах лабораторной диагностики сифилиса, клещевого и вшивого возвратных тифов, лептоспирозов.

Демонстрация таблиц - «Спирохеты», «Бледная трепонема», «Лептоспиры», «Бореллий возвратного тифа» «Микробиологическая диагностика спирохетозов». Готовых микропрепаратов «*Treponema pallidum*», «Бореллия».

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчета студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Изучить морфологию спирохет по таблицам и демонстрационным препаратам. Зарисовать.
2. Оформить в протоколе схему постановки реакции Вассермана.
3. Записать принцип постановки реакции микропреципитации с кардиолипидным антигеном и реакции иммобилизации трепонем.
4. Оформить в протоколе схемы лабораторной диагностики возвратных тифов и лептоспирозов.

Контрольные вопросы:


1. Характеристика возбудителя сифилиса: биологические свойства, резистентность.
2. Этиопатогенез сифилиса. Особенности иммунитета.
3. Лабораторная диагностика сифилиса.
4. Характеристика возбудителей клещевого и вшивого возвратных тифов: биология и экология бореллий.
5. Этиопатогенез возвратных тифов. Клинические проявления.
6. Лабораторная диагностика бореллиозов.
7. Биологическая характеристика лептоспир. Резистентность, этиопатогенез заболевания.
8. Лабораторная диагностика лептоспирозов.

Контрольные вопросы к коллоквиуму:

1. Общая характеристика возбудителя чумы.
2. Этиопатогенез чумы, клинические формы.
3. Методы лабораторной диагностики чумы, специфическая профилактика чумы.
4. Общая характеристика возбудителя сибирской язвы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 52 -</p>
--	---	---	---------------

5. Этиопатогенез сибирской язвы.
6. Методы лабораторной профилактики сибирской язвы, специфическая профилактика.
7. Общая характеристика возбудителей бруцеллеза.
8. Этиопатогенез бруцеллеза, иммунитет.
9. Методы лабораторной диагностики бруцеллеза, серологические реакции, применяемые при бруцеллезе.
10. Общая характеристика возбудителя туляремии.
11. Этиопатогенез туляремии, иммунитет.
12. Методы лабораторной диагностики туляремии.
13. Таксономическое положение, общая характеристика патогенных анаэробов.
14. Общая характеристика возбудителей газовой гангрены.
15. Лабораторная диагностика раневой анаэробной инфекции (газовой гангрены).
16. Специфическая профилактика и лечение газовой гангрены.
17. Общая характеристика возбудителя столбняка.
18. Лабораторная диагностика столбняка.
19. Специфическая профилактика и лечение столбняка.
20. Общая характеристика возбудителя ботулизма.
21. Лабораторная диагностика ботулизма.
22. Специфическая профилактика и лечение ботулизма.
23. Характеристика возбудителя сифилиса: биологические свойства, резистентность.
24. Этиопатогенез сифилиса. Особенности иммунитета.
25. Лабораторная диагностика сифилиса.
26. Характеристика возбудителей клещевого и вшивого возвратных тифов: биология и экология боррелий.
27. Этиопатогенез возвратных тифов. Клинические проявления.
28. Лабораторная диагностика боррелиозов.
29. Биологическая характеристика лептоспир. Резистентность, этиопатогенез заболевания.
30. Лабораторная диагностика лептоспирозов.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 53 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 14

Тема: Вирусы - возбудители инфекционных болезней человека. Вирусологический метод исследования. Возбудители респираторных вирусных инфекций: грипп, парагрипп, ОРВИ. Аденовирусы.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа респираторных вирусных инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на морфологию, физиологию и основные свойства вирусов, учитываемые в диагностике вирусных инфекций.

Подробно останавливается на методах диагностики вирусных инфекций.

При разборе возбудителей вирусных респираторных инфекций отмечает невысокую резистентность во внешней среде и постоянную изменчивость антигенной структуры вируса гриппа; акцентирует внимание на методах и принципах диагностики острых респираторных заболеваний, определяющихся особенностями этой группы микроорганизмов.

Обращает внимание на препараты, применяемые для специфического лечения и профилактики изучаемых вирусных инфекций.

Демонстрация: таблиц «Способы заражения куриных эмбрионов», «Лабораторная диагностика ОРЗ», «Видимые проявления действия вирусов в клеточных культурах», готовых микропрепаратов «Вирус гриппа, окраска по Морозову».

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. По таблицам изучить взаимодействие вируса гриппа с клеткой и зарисовать в тетрадь.
2. Микроскопия готовых препаратов с последующей зарисовкой в тетрадь.
3. Записать в протокол ЦПД вирусов на клетки.
4. Оформить схемы лабораторной диагностики гриппа и аденовирусной инфекции.
5. Записать схемы постановки РГА, РТГА и РН.

Вопросы для обсуждения:

1. Вирус гриппа. Классификация, особенности строения, изменчивость.
2. Эпидемиология, патогенез, клиника гриппа.
3. Лабораторная диагностика гриппа.
4. Препараты для специфического лечения и профилактики гриппа.
5. Вирус парагриппа. Классификация, особенности строения.
6. Эпидемиология, патогенез, клиника парагриппа.
7. Лабораторная диагностика парагриппа.
8. Препараты для специфического лечения и профилактики парагриппа.
9. Аденовирусная инфекция. Характеристика семейства аденовирусов. Особенности культивирования и репродукции.
10. Эпидемиология, патогенез, клиника аденовирусной инфекции.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 54 -</p>
--	---	---	---------------

11. Лабораторная диагностика аденовирусной инфекции. Специфическое лечение и профилактика.



ЗАНЯТИЕ № 15

Тема: Герпесвирусы. Вирус кори, краснухи, паротита.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа герпесвирусных инфекций, кори, краснухи, паротита.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель обращает внимание на морфологию, физиологию и основные свойства вирусов, учитываемые в диагностике вирусных инфекций. Подробно останавливается на методах диагностики вирусных инфекций.

При разборе возбудителей отмечает невысокую резистентность во внешней среде, акцентирует внимание на методах и принципах диагностики заболеваний, определяющихся особенностями этой группы микроорганизмов.

Обращает внимание на препараты, применяемые для специфического лечения и профилактики изучаемых вирусных инфекций.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записать схемы лабораторной диагностики герпесвирусных инфекций.
2. Записать схему лабораторной диагностики кори.
3. Записать схему лабораторной диагностики краснухи.
4. Записать схему лабораторной диагностики паротита.

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика и классификация вирусов герпеса.
 1. Характеристика вируса простого герпеса: биология возбудителя, резистентность. Этиопатогенез заболевания.
 2. Характеристика вируса ветряной оспы и опоясывающего лишая: биологические свойства возбудителя, эпидемиология и патогенез заболевания.
 3. Характеристика цитомегаловируса: биология возбудителя, резистентность. Этиопатогенез заболевания.
 4. Характеристика вируса Эпштейна-Барра: биология возбудителя, резистентность. Этиопатогенез заболевания.
 5. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций. Специфическая профилактика и лечение.
 6. Характеристика вируса кори, биология, этиопатогенез заболевания.
 7. Лабораторная диагностика вируса кори. Основные принципы лечения и профилактики.
6. Вирус краснухи: биологические свойства, эпидемиология и патогенез заболевания. Клинические формы.
 7. Лабораторная диагностика краснухи. Принципы лечения и специфической профилактики.
8. Вирус паротита: биологические свойства, эпидемиология и патогенез заболевания. Клинические формы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 56 -</p>
--	---	---	---------------

9. Лабораторная диагностика паротита. Принципы лечения и специфической профилактики.



ЗАНЯТИЕ № 15 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Тема: Возбудители энтеровирусных инфекций. Вирусы Коксаки и ЕСНО, полиомиелита. Лабораторная диагностика.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа энтеровирусных инфекций.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель подробно останавливается на характеристике свойств изучаемых групп вирусов.

Обращает внимание на лабораторную диагностику вирусов Коксаки и ЕСНО, полиомиелита.

Делает акцент на препаратах, используемых для специфической профилактики и лечения изучаемых групп вирусов.

Демонстрация: таблицы «Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций», препараты для профилактики полиомиелита.

План выполнения работы:


1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме – 50 мин.
3. Объяснение преподавателя и демонстрация - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест- 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записать основные признаки энтеровирусов.
2. Записать схему лабораторной диагностики полиомиелита, вирусов Коксаки и ЕСНО.

Контрольные вопросы:

1. Характеристика вирусов Коксаки и ЕСНО, биология, этиопатогенез заболеваний.
2. Лабораторная диагностика вирусов Коксаки и ЕСНО. Основные принципы лечения и профилактики.
3. Вирус полиомиелита: биологические свойства, эпидемиология и патогенез заболевания. Клинические формы.
4. Лабораторная диагностика полиомиелита. Принципы лечения и специфической профилактики.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 58 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 17

Тема: Вирусные гепатиты. Особенности этиопатогенеза у детей. Диагностика. Специфическая профилактика.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа вирусных гепатитов.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для специфической профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель подробно останавливается на биологических свойствах изучаемой группы вирусов, значение заболеваний в патологии человека и их осложнений.

Обращает внимание на особенности лабораторной диагностики вирусов. Делает акцент на принципах лечения, специфическую и неспецифическую профилактику вирусных гепатитов изучаемых групп.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записывают в протокол схемы лабораторной диагностики вирусных гепатитов А, Е, В, С, D.
2. Записывают препараты, используемые для специфической профилактики вирусных гепатитов.

Контрольные вопросы:

1. Характеристика вируса гепатита А: биология возбудителя, резистентность. Этиопатогенез заболевания.
2. Характеристика вируса гепатита Е: биологические свойства возбудителя, эпидемиология и патогенез заболевания.
3. Лабораторная диагностика вирусных гепатитов А и Е. Специфическая профилактика и лечение.
4. Вирусные гепатиты В и D. Таксономия и биологические свойства.
5. Лабораторная диагностика вирусных гепатитов В и D. Специфическая профилактика.
6. Вирусный гепатит С. Биологические свойства, этиопатогенез заболевания.
7. Лабораторная диагностика гепатита С. Специфическая профилактика.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 59 -</p>
--	---	---	---------------

ЗАНЯТИЕ № 17 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Тема: Онкогенные вирусы. ВИЧ-инфекция.

Цель работы: выработать навыки лабораторного анализа онковирусов и ВИЧ-инфекции.

Задачи: знать биологию возбудителей и методы лабораторной диагностики заболеваний; интерпретировать полученные результаты исследований; подобрать препараты для профилактики и терапии.

Теоретическая часть:

Преподаватель подробно останавливается на биологических свойствах изучаемой группы вирусов, значение заболеваний в патологии человека и их осложнений.

Обращает внимание на особенности лабораторной диагностики вирусов. Делает акцент на принципах лечения и профилактики онковирусов и ВИЧ-инфекции.

План выполнения работы:

1. Работа с группой (режим, проверка присутствующих, тема занятия) - 10 мин.
2. Опрос по теме - 50 мин.
3. Объяснение преподавателя - 30 мин.
4. Самостоятельная работа и отчет студентов - 60 мин.
5. Подведение итогов практической работы - 15 мин.
6. Проверка протоколов, уборка рабочих мест - 15 мин.

Содержание отчета студентов:

1. Записывают в протокол схему лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.
2. Записывают препараты, используемые для лечения ВИЧ-инфекции.
3. Записывают в протокол алгоритм выявления онковирусов.

Контрольные вопросы:

1. История открытия онковирусов и их классификация.
2. Характеристика и классификация ДНК - онковирусов.
3. Особенности взаимодействия онкогенных вирусов с клетками.
4. Характеристика паповирусов, этиопатогенез заболеваний и клиническая картина.
5. Характеристика онкогенных аденовирусов, этиопатогенез заболеваний и клиническая картина.
6. Характеристика онкогенных герпесвирусов, этиопатогенез заболеваний и клиническая картина.
7. Характеристика онкогенных поксвирусов, этиопатогенез заболеваний и клиническая картина.
8. Характеристика онкогенных гепаднавирусов, этиопатогенез заболеваний и клиническая картина.
9. Онкогенные ретровирусы: экзогенные и эндогенные. Общая характеристика и взаимодействие с клетками.
10. Ретровирусы – возбудители опухолевых заболеваний.
11. Принципы лабораторной диагностики онковирусных заболеваний. Профилактика и лечение.
12. ВИЧ - инфекция: таксономия, строение, резистентность.
13. Этиопатогенез ВИЧ – инфекции, стадии, клинические формы.
14. Лабораторная диагностика ВИЧ - инфекции. Принципы лечения, профилактика.



Приложение к методическим указаниям для студентов для изучения общего и частого курсов дисциплины «Микробиология, вирусология»

Общий курс

МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Тема: *«Микробиологические лаборатории, их оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микробами. Микроскопический метод исследования»*

Цель:

- изучить правила работы в учебной микробиологической лаборатории, научиться пользоваться оборудованием;
- научиться микроскопировать препараты.

Задачи:

- овладеть основными навыками работы в микробиологической лаборатории;
- освоить микроскопический метод исследования.

Устройство и требования, предъявляемые к работе в микробиологической лаборатории

Микробиологическая лаборатория – комплекс помещений, специально оборудованных для проведения лабораторных исследований.

При лечебно-профилактических учреждениях микробиологические лаборатории:


- проводят анализы, необходимые для постановки, уточнения диагноза заболевания, способствуя правильному выбору специфического лечения;
- осуществляют контроль за состоянием внешней среды в хирургических стационарах, отделениях реанимации, аптеке и других подразделениях, а также контролируют стерильность материалов, смывов с рук персонала и оборудования, операционных и перевязочных.

Микробиологические лаборатории выполняют исследования:

- диагностического и профилактического характера, обследуют организованные коллективы и отдельных лиц на носительство патогенных бактерий; проверяют бактериальную загрязненность инвентаря, оборудования и рук персонала родильных домов и хирургических стационаров, детских ясель и салон, работников предприятий общественного питания и торговли пищевыми продуктами;
- исследуют микробную загрязненность объектов внешней среды: воздух, воду, почву, продукты питания.

Углубление знаний о природе микробов и разделение инфекций на бактериальные, вирусные, грибковые, протозойные, хламидийные, риккетсиозные и другие отражается и на специфике работы микробиологических лабораторий. В настоящее время лаборатории и более крупные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированы с той или иной группой микробов.

Все работы с вирусами проводятся в вирусологических лабораториях, оснащенных соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например: риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Иммунологические исследования проводятся в иммунологических лабораториях, хотя отдельные виды исследований, например,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 61 -</p>
--	---	---	---------------

серодиагностика инфекционных болезней, могут выполняться и в микробиологических лабораториях.

Работа с патогенными микробами проводится в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключая возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микробами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий, населения и окружающей среды, обусловила разработку классификации микробов, в которой последние подразделены на 4 группы по степени их биологической опасности (классификация Всемирной организации здравоохранения). В 1-ю группу включены микробы с низкой степенью опасности, т. е. микробы, которые в обычных условиях, как правило, не вызывают заболеваний людей и сельскохозяйственных животных. Во 2-ю группу включены микробы со средней степенью опасности, т. е. микробы, способные вызывать заболевания людей или сельскохозяйственных животных, но в обычных условиях не представляющие опасности для работников лабораторий и для населения; лабораторные заражения и заболевания редко приводят к серьезным последствиям для заболевших, а наличие эффективных средств профилактики и лечения исключает возможность распространения инфекций. К 3-й группе отнесены микробы с высокой степенью опасности для работников лабораторий, так как они часто вызывают тяжелые заболевания у людей, но возможность передачи возбудителя от человека человеку отсутствует или является незначительной. Наконец, в 4-ю группу включены микробы с высокой степенью опасности из-за возможного эпидемического распространения инфекции, поскольку эти микробы способны вызывать тяжелые заболевания у людей и могут легко передаваться другим людям путем прямого контакта или опосредованно. В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы также делят на 4 группы: 1-я группа — возбудители особо опасных инфекций; 2-я группа — возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека; 3-я группа — возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы; 4-я группа — условно-патогенные микробы — возбудители оппортунистических инфекций. Нумерация групп микробов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к 1-й группе отнесены микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе — особо опасные.

В соответствии с делением микробов на группы по степени их биологической опасности лаборатории также делят на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют три категории микробиологических лабораторий:


- *базовые* (основные или общего типа) лаборатории, которые в связи с конкретными особенностями работы могут быть оборудованы различными защитными устройствами;
- *режимные* (изолированные) лаборатории или лаборатории удержания;
- *лаборатории особого режима* (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания (табл. 1).

Безопасность проведения работ в лабораториях всех категорий обеспечивается соблюдением распорядка и правил работы в лаборатории, выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению, обеспечением лабораторий соответствующим оборудованием, медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников, обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

Устройство микробиологической лаборатории

Лаборатория должна располагаться в отдельном здании или в изолированной его части и иметь не менее 2-х входов.

Все помещения лаборатории делят на «чистую» и «заразную» зону.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 62 -</p>
--	---	---	---------------

– Лаборатория должна быть обеспечена водопроводом, канализацией, электричеством, приточно-вытяжной вентиляцией, центральным отоплением, горячи водоснабжением.

Таблица 1

Уровень опасности работ с микробами и категории лабораторий

Группа риска	Классификация лабораторий	Пример лаборатории	Пример микроба, с которым ведутся работы
1. Низкий индивидуальный и низкий общественный риск	Базовые (основные)	Базовые (основные) учебные лаборатории медицинских вузов	Кишечная палочка, эпидермальный стафилококк
2. Умеренный индивидуальный и ограниченный общественный риск	Базовые (основные) с защитными устройствами и средствами	Лаборатории службы здравоохранения первичного звена, больницы первичного звена, диагностические лаборатории	Сальмонеллы, вирус гепатита В, микобактерии туберкулеза*, вирус лимфоцитарного хориоменингита**
3. Высокий индивидуальный и низкий общественный риск	Режимные (изолированные) или лаборатории удержания	Специальные диагностические лаборатории	Бруцеллы, вирус Ласса, гистоплазма
4. Высокий индивидуальный и высокий общественный	Особого режима (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания	Лаборатории особо опасных инфекций	Иерсинии чумы, вирусы Эбола и Марбург

* В случае больших объемов материала и высоких концентрации микробов в лаборатории или когда используемая техника может привести к образованию аэрозоля, эти и подобные им микробы должны быть отнесены к 3-й группе риска.

** Пример включает также исследовательские лаборатории при соответствующем уровне группы риска.


– В лаборатории должны быть оборудованы раковины для мытья рук персонала и раковины, предназначенные для мытья инвентаря. Высушивание рук производится электрополотенцем или индивидуальными полотенцами.

– Окна должны быть с легко открываемыми форточками и оборудованы мелкими сетками.

– Все помещения лаборатории должны иметь естественное и искусственное освещение.

– Стены лаборатории должны быть облицованы глазурной плиткой на высоту 1,5 м или выкрашены масляной краской светлых тонов.

– Помещения лаборатории должны быть непроницаемы для грызунов.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 63 -</p>
--	---	---	---------------

- Столы, на которых производится микроскопирование, должны быть оснащены специальными настольными лампами дневного света. Рабочие поверхности столов изготавливаются из водонепроницаемого, кислото- и щелочеустойчивого материала, непроницаемого, не портящегося при обработке дезинфицирующими растворами.
- Мебель лаборатории не должна иметь щелей и пазов, затрудняющих обработку обеззараживающими веществами.
- В коридорах или на хорошо доступных местах должны быть размещены щиты с набором противопожарного инвентаря.
- В лаборатории должна быть аптечка с необходимым набором средств для оказания первой помощи.
- Помещения лаборатории должны быть распланированы таким образом, чтобы соблюдалась поточность (этапность) технологического процесса.
- Регистратура и помещение для приема проб размещается при входе в лабораторию.
- Исследуемый материал в лабораторию доставляется в специальном металлическом футляре, биксе и т.п. Распаковка материала, присланного в лабораторию для исследования, проводится лаборантом с соблюдением мер предосторожности. Банки и пробирки, содержащие материал, обтирают дезинфицирующим раствором и ставят в металлические подносы и штативы.
- Бикс, в котором доставляется материал, обрабатывают внутри дезинфицирующим раствором. Только после этого в него можно положить чистую посуду, требуемую в отделении.

Основные помещения микробиологической лаборатории

1. **Посевная и рабочая комнаты** должны быть размещены смежно и приближенно к помещению для приема проб с учетом соблюдения поточности работы с зараженным материалом.

В микробиологической лаборатории проводятся исследования по 4 основным группам: кишечная, воздушно-капельная, гнойно-воспалительная, санитарная микробиология. Необходимо иметь различные комнаты для исследования по всем этим группам.

2. **Бокс** предназначен для проведения работ в асептических условиях. В боксе проводится контроль стерильности простерилизованной продукции, смывов с рук хирургов, шовного материала, аптечной продукции.

Бокс комплектуется из 2-х помещений: собственного бокса и предбоксника. Для бокса может быть выделено отдельное помещение. Предбоксник должен быть отделен от бокса стеклянной перегородкой с дверью. Стены, потолок и оборудование боксов и предбоксников должны быть окрашены светлой масляной краской или выложены плиткой, не иметь выступов, карнизов, щелей, трещин, пол должен быть покрыт линолеумом или плиткой.


Бокс должен быть оборудован приточно-вытяжной вентиляцией с преобладанием притока над вытяжкой. В боксе и предбокснике для обеззараживания воздуха на высоте не ниже 2 м от пола устанавливают бактерицидные лампы.

3. **Моечная** оборудована для мытья посуды. Здесь должны быть обязательно раковины, горячая вода, емкости для замачивания чашек, петель, пробирок, стол.

4. **Стерилизационная** - помещение для стерилизации питательных сред, предметов медицинского назначения, лабораторной посуды.

5. **Средоварочная** - в ней производится приготовление, разлив, хранение питательных сред.

6. **Помещение для монтирования посуды.**

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 64 -</p>
--	---	---	---------------

7. **Помещение для персонала.** Здесь оборудованы шкафчики для верхней одежды и вешалки для халатов. Обязательной формой одежды является халат, колпак, сменная обувь.

8. **Другие помещения:** материальная предназначена для хранения запасов реактивов, посуды, аппаратуры, хозяйственного инвентаря.

На каждую группу микробиологических исследований необходимо иметь отдельный термостат. В больших лабораториях целесообразно вместо расстановки нескольких термостатов, оборудовать термальную комнату в изолированном темном помещении, включающую термальную камеру, стены которой покрываются теплоизоляционным материалом, а вдоль стен устраиваются стеллажи, покрытые легко дезинфицируемым материалом, и предбоксник.

В «заразной» зоне вирусологической лаборатории располагаются:

- помещения для приготовления культуры ткани;
- помещения для индикации и идентификации респираторных вирусов;
- помещения для исследования на корь, краснуху, паратит;
- помещения для индикации и идентификации энтеровирусов;
- помещения для индикации и идентификации арбовирусов;
- помещения для исследования на вирусы гепатитов;
- помещения для исследования по санитарной вирусологии;
- помещение для серологических исследований.


Требования к работе с микроорганизмами I и IV групп патогенности

Работу с культурами микробов I и II групп можно проводить только с разрешения Центральной режимной комиссии Главного управления карантинных инфекций Министерства Здравоохранения РФ.

Работа с возбудителями III и IV групп требует соблюдения обычного режима работы лаборатории, обеспечивающего надежную защиту персонала лаборатории от внутри лабораторных заражений в процессе исследований и надлежащее обеззараживание материала, исключающее возможность распространения возбудителей за пределы лаборатории. Лаборатории, производящие работы с микроорганизмами III и IV группы патогенности должны располагаться в отдельно стоящих зданиях, не связанных с производственными помещениями, или в изолированном блоке здания, имеющем отдельный вход, а лаборатории, работающие с микроорганизмами IV группы патогенности, могут располагаться в изолированном блоке производственного корпуса.

Требования, предъявляемые к работе в бактериологической лаборатории

- Доставка в лабораторию материала проводится в контейнерах, биксах или в сумках-холодильниках.
- Во время работ с патологическим материалом, которые проводят в боксах и предбоксниках, двери должны быть закрыты, выход из бокса во время работы запрещен.
- После окончания работы все объекты, содержащие патогенные биологические агенты (ПБА), убираются в холодильники, термостаты, шкафы.
- Слив необеззараженных жидкостей в канализационную сеть запрещен.
- Посуда со сгустками крови подлежит обеззараживанию дезинфицирующими растворами.
- После завершения работы в «заразной» зоне все ее помещения запираются и опечатываются.
- Хранение ПБА, их учет, передача, транспортировка и уничтожение проводится в соответствии с требованиями СП 1.2.036-95.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 65 -</p>
--	---	---	---------------

– В одном и том же помещении допускается поочередное проведение диагностических и экспериментальных исследований после проведения дезинфекции помещения.

– В лаборатории должен храниться минимальный недельный запас дезинфицирующих средств.

– Контроль работы автоклавов проводят в соответствии с «Методическими указаниями по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов».


– Обязательно проводить текущую уборку помещений ежедневно влажным способом после окончания рабочего дня: в «чистой» зоне лаборатории с использованием моющих средств. Уборку «заразной» зоны проводят с применением дезинфектантов.

– В боксах обязательна еженедельная генеральная уборка с применением дезинфицирующих средств. После проведения влажной уборки проводят обязательную дезинфекцию с помощью бактерицидных ламп.

Правила работы в микробиологической лаборатории

Основные правила работы в базовой лаборатории предусматривают:

- запрет работ с пипеткой при помощи рта;
- запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;
- поддержание чистоты и порядка;
- дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;
- мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
- проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
- обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием;
- заразный материал, предназначенный к уничтожению вне лаборатории, помещают в прочные непромокаемые контейнеры, которые надежно закрывают перед удалением из лаборатории;
- запрет на использование лабораторной спецодежды и средств индивидуальной защиты вне лаборатории;
- дезинфекцию всех инфицированных предметов;
- применение очков или других защитных средств для глаз и лица от брызг или образующихся при работе частиц;
- допуск в рабочую зону только лиц, предупрежденных о потенциальной опасности и выполнивших специальные требования (например, вакцинация);
- во время работы двери лаборатории должны быть закрыты;
- вход в виварии ограничен специально отобранным для работы там персоналом;
- детям вход в лабораторию запрещен;
- проведение текущей дезинсекции и дератизации лабораторных помещений;
- запрещено вносить в лабораторию животных, не предназначенных для работы;
- использование остроконечных шприцевых игл ограничено парентеральными инъекциями; забором крови у лабораторных животных или жидкостей из флаконов через резиновые пробки;
- шприцы и иглы при работе с инфекционными жидкостями нельзя использовать вместо приборов автоматического пипетирования;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 66 -</p>
--	---	---	---------------

- вместо остроконечных игл везде, где возможно, должны использоваться тупоконечные канюли;
- работа с кровью, заразным материалом и зараженными животными ведется в резиновых перчатках;
- после работы перчатки снимают с соблюдением правил асептики и перед удалением из лаборатории автоклавируют;
- немедленное сообщение руководителю лаборатории обо всех аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности;
- проведение медицинских мероприятий в соответствии с медицинским значением происшествия;
- отбор у всех сотрудников лаборатории проб крови перед допуском к работе и сохранение фонового образца сыворотки;
- периодический отбор проб крови персонала для исследования в соответствии с характером работы и степенью риска;
- ответственность руководителя лаборатории за обучение персонала технике безопасности;
- в лаборатории должна быть инструкция по технике безопасности;
- персонал должен быть предупрежден об имеющейся биологической опасности;
- персонал должен знать порядок и правила работы в лаборатории и строго выполнять их.

Правила работы режимных лабораторий включают все положения, обязательные для лабораторий общего типа. Специальными правилами являются следующие:


- в лабораторных помещениях все манипуляции должны осуществляться только двумя сотрудниками, работа в одиночку с инфекционным материалом запрещена;
- двери лабораторных помещений должны быть снабжены объявлениями и знаком биологической опасности, на двери указывают ответственное за работу лицо и условия (вакцинация и т.п.), при которых разрешается вход;
- обязательно постоянное ношение в лаборатории спецодежды и других средств индивидуальной защиты, целевая санитарная обработка персонала при выходе из лаборатории; спецодежда перед стиркой подвергается обеззараживанию;
- работа с зараженными животными в виварии проводится в респираторах.

Правила работы для максимально изолированных лабораторий дополняются тем, что вход и выход из лаборатории осуществляются через санитарный пропускник, расположенный между рабочей и вспомогательной зоной; при входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, а при выходе — целевая санитарная обработка персонала.

Для повседневной работы лаборатория должна располагать необходимыми питательными средами, химическими реактивами, диагностическими сыворотками и другими лабораторными материалами.

Аппаратура для выращивания микроорганизмов, стерилизации и других микробиологических исследований

1. **Термостат** – аппарат для выращивания микроорганизмов, в котором поддерживается температура в пределах 28-43°C. Термостаты выпускают водяными или суховоздушными.
2. **Микроанаэростат** – аппарат для выращивания микроорганизмов в бескислородных условиях.
3. **Сушильный шкаф (печь Пастера)**. Предназначен для стерилизации или сушки лабораторной посуды и других материалов. Он состоит из наружного корпуса, средней и рабочей камеры, панели управления и подставки.
4. **Автоклав** – предназначен для стерилизации паром. В микробиологических лабораториях используются автоклавы разных моделей (горизонтальные, вертикальные, стационарные, переносные и др.).

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 67 -</p>
--	---	---	---------------

5. **Холодильники** – широко используются в микробиологических лабораториях для хранения при температуре около 4°С музейных культур микроорганизмов, питательных сред, вакцин, сывороток и других препаратов.

Для сохранения биопрепаратов при температуре менее 0°С используются низкотемпературные холодильники, в которых поддерживается температура – 20°С и ниже.

6. **Центрифуги** – приборы для осаждения микроорганизмов, эритроцитов и других клеток, а также для разделения неоднородных жидкостей (эмульсий, суспензий) с помощью центробежной силы. В микробиологических лабораториях применяются центрифуги, работающие при различных скоростях.

7. **Прибор для счета колоний.** Представляет собой полуавтоматический счетчик, снабженный иглой с пружинным устройством.

Универсальным инструментом для производства посевов является **бактериальная петля**. Кроме нее, используют иглу, а для посевов на среды в чашках Петри – металлические и стеклянные **шпатели**.

Для посевов жидких материалов, кроме петли, используют **пастеровские** и **градуированные пипетки**. На практических занятиях студент получает бактериальные культуры в пробирках на питательных средах, с целью извлечь оттуда необходимые для исследования микроорганизмы, либо пересева их с одной среды в другую. То и другое производится при помощи петли, допускающей быструю стерилизацию на огне (быстро накаляется и быстро остывает) без повреждения металла. При этом петлю держат в пламени вертикально для того, чтобы проволока на всем протяжении была одновременно накалена добела. Затем слегка обжигают и ближайший к проволоке металлический петледержатель.

Для приготовления препарата исследуемый материал берут бактериологической петлей (предварительно простерилизовать в пламени горелки).

При взятии материала из пробирки с бактериальной культурой петлю прожигают в пламени горелки до покраснения, держа ее в правой руке за петледержатель. Затем берут пробирку в левую руку так, чтобы видеть всю поверхность питательной среды.

Для изучения морфологии бактерий пользуются микроскопией. При этом исследованию могут подвергаться как живые, так и убитые микроорганизмы. В зависимости от величины микроорганизм можно рассматривать при помощи сухих объективов или под иммерсионными системами.


Микроскопы и методы микроскопии

Для микробиологических исследований используют несколько типов микроскопов (биологический, люминесцентный, электронный) и специальные методы микроскопии (фазово-контрастный, темнопольный).

Биологический микроскоп. В микробиологической практике широко применяют микроскопы отечественного производства. Предельная разрешающая способность иммерсионного микроскопа равна 0,2 мкм. Общее увеличение микроскопа определяется произведением увеличения объектива на увеличение окуляра.

Фазово-контрастная микроскопия основана на превращении изменения по фазе, возникающего при прохождении световой волны через так называемые фазовые (прозрачные) объекты, в изменения по амплитуде, которые улавливаются глазом.

С помощью фазово-контрастного приспособления фазовые изменения световых волн, проходящих через объект, превращаются в амплитудные и прозрачные объекты, становятся видимыми в микроскоп. Прозрачные биологические объекты при фазово-

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 68 -</p>
--	---	---	---------------

контрастной микроскопии приобретают высокую контрастность изображения, которая может быть позитивной или негативной.

Люминесцентная (или флюоресцентная) микроскопия основана на явлении фотолюминесценции.

Первичная (собственная) люминесценция наблюдается без предварительного окрашивания объекта; *вторичная (наведенная)* люминесценция возникает после окраски препаратов специальными люминесцирующими красителями – флюорохромами.

Электронная микроскопия делает возможным наблюдение объектов, размеры которых лежат за пределами разрешающей способности светового микроскопа (0,2 мкм). Электронный микроскоп применяется для изучения вирусов, тонкого строения различных микроорганизмов, макромолекулярных структур и других субмикроскопических объектов.

Методические указания

Правила работы с микроскопом. Работа с микроскопом состоит из правильной установки освещенности поля зрения и препарата, и его микроскопии разными объективами. Освещение может быть естественным (дневным) или искусственным. Для искусственного освещения используют специальные источники света, например, осветитель ОИ-7.

При микроскопии препаратов с иммерсионным объективом следует:


- 1) на приготовленный и окрашенный мазок нанести небольшую каплю иммерсионного масла и поместить препарат на предметный столик (укреплять зажимами не обязательно);
- 2) повернуть револьвер и установить иммерсионный объектив 90, осторожно опустить тубус микроскопа вниз до погружения фронтальной линзы иммерсионного объектива в каплю масла;
- 3) установить ориентировочный фокус при помощи макрометрического винта; нельзя допускать соприкосновения объектива с препаратом, которое может повлечь поломку препарата или фронтальной линзы (свободное расстояние иммерсионного объектива 0,1-1 мм).

Окончательную фокусировку препарата производят микрометрическим винтом, которые рекомендуется вращать не более чем в пределах одного оборота.

После окончания работы микроскоп необходимо привести в порядок. Специальный тряпочкой тщательно вытирают масло с иммерсионного объектива, переводят револьвер на малый сухой объектив 8.

Порядок работы с фазово-контрастным устройством:

1. Установить в микроскопе фазовый конденсор и необходимый фазовый объектив. Револьвер конденсора поставить в положение «0».
2. Поместить препарат на предметный столик.
3. Установить освещение, чтобы четкое изображение нити электролампы находилось в плоскости, полностью открытой ирис-диафрагмы конденсора.
4. Заменить окуляр на вспомогательный микроскоп МИР-4 и перемещением его окуляра сфокусировать фазовое кольцо объектива до получения четкого темно-серого изображения.
5. Установить диафрагму в соответствии с фазовым объективом. В поле зрения появляется светлое кольцо диафрагмы.
6. С помощью центрировочных винтов конденсора полностью совместить светлое и темное кольца.
7. Заменить вспомогательный микроскоп окуляром и микроскопировать препарат.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 69 -</p>
--	---	---	---------------

8. При смене объектива или препарата вновь проверить центровку кольцевой диафрагмы с фазовым кольцом.

Правильное выполнение всех условий обеспечивает достаточно высокую контрастность изображения.

Техника темнопольной микроскопии:

1. Заменить обычный конденсор в микроскопе на темнопольный (параболоид- или кардиоид-конденсор).

2. Для создания оптически гомогенной среды на верхнюю линзу темнопольного конденсора нанести каплю иммерсионного масла. Поднять конденсор до соприкосновения капли масла с предметным стеклом.

3. Установить достаточно сильный и стабильный источник света (например, осветитель ОИ-7) и провести точную юстировку осветительной системы микроскопа.

Возможные ошибки при микроскопии в темном поле связаны с наличием пузырьков воздуха между конденсором и предметным стеклом, неправильной установкой конденсора и другими причинами.

Техника люминесцентной микроскопии. В повседневной работе обычно пользуются освещением объекта сверху, через объектив в падающем свете. При этом используют синие светофильтры ФС-1 (2 мм) и ФС-2 (4 мм), которые устанавливают в соответствующие гнезда на правой стороне штатива микроскопа. В качестве желтого запирающего фильтра для защиты глаза используют фильтр ЖС-18, который вмонтирован в барабан, находящийся над револьвером микроскопа МЛ-2. Цифра «1» на барабане, обращенная в сторону исследователя, соответствует фильтру ЖС-18.

При работе с микроскопом МЛ-2 необходимо:

- 1) включить вилку блока питания микроскопа в электрическую сеть;
- 2) поворотом по часовой стрелке установить рукоятку регулятора напряжения у красной точки;
- 3) тумблер на лицевой стороне блока питания установить в положение «ВКЛ» (включено и нажать кнопку зажигания лампы микроскопа; если лампа не загорается, повернуть рукоятку регулятора напряжения на несколько миллиметров по часовой стрелке и вновь нажать кнопку (на кнопку нажимать не более 2-3 с);
- 4) после зажигания лампы установить рукоятку регулятора рабочего тока на отметку в 4 А; через 10 мин после включения лампы микроскопа можно начинать исследование препаратов.


При работе с opak-иллюминатором ОИ-17 следует:

- 1) укрепить opak-иллюминатор в тубусном гнезде головки микроскопа и сверху установить тубус;
- 2) отцентрировать лучи ртутно-кварцевой лампы в отношении opak-иллюминатора;
- 3) перед источником света поместить два синих светофильтра; для защиты глаз на окуляр надеть желтый светофильтр.

Препарат помещают на предметный столик микроскопа, револьвер с объективами устанавливают в требуемое положение и добиваются фокусировки исследуемого объекта с помощью макро- и микровинта.

Люминесцентную микроскопию проводят в затемненной комнате.

Методы приготовления препаратов для темнопольной, фазово-контрастной и люминесцентной микроскопии. Для темнопольной и фазово-контрастной микроскопии приготавливают препарат «раздавленная» капля. Микроскопируют препарат с объективом 40 или специальным иммерсионным объективом с ирис-диафрагмой, позволяющей регулировать численную апертуру от 1,25 до 0,85.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 70 -</p>
--	---	---	---------------

Толщина предметных стекол не должна превышать 1-1,5 мм, покровных – 0,15-0,2 мм. Для люминесцентной микроскопии готовят на предметных стеклах препараты-мазки или «раздавленная» капля, которые флюорохромируют специальными красителями: акридиновым желтым, акридиновым оранжевым, аурамином, корифосфином в разведении 1:10 000 и более. При работе с иммерсионным объективом используют нефлюоресцирующее масло.

Приготовление препаратов для исследования в электронном микроскопе. Приготовление и исследование препаратов в электронном микроскопе имеет ряд особенностей. Препараты приготавливают на специальных пленках-подложках, так как стекло непроницаемо для электронов. Исследуемый объект максимально очищают от посторонних примесей, наносят на пленку-подложку, предварительно помещенную на опорную металлическую сеточку, и изучают в электронном микроскопе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Принципы организации и режим работы бактериологической лаборатории. Какое оборудование используют в лаборатории?
2. Назначение автоклава, сушильного шкафа, термостата, центрифуги.
3. Правила работы с биологическим микроскопом. Как следует производить установку препарата на резкость?
4. Принцип метода фазово-контрастной микроскопии. преимущества фазово-контрастной микроскопии.
5. Принцип темнопольного метода микроскопии.
6. Устройство люминесцентного микроскопа. Какие флюорохромы применяют для окраски препаратов при люминесцентной микроскопии?
7. Как устроен электронный микроскоп? Методы приготовления электронно-микроскопических препаратов бактерий и вирусов.

МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

В данной главе рассматриваются морфологические особенности основных представителей многообразного мира микроорганизмов: бактерий, актиномицетов, спирохет, микоплазм, риккетсий, грибов, вирусов животных и людей, вирусов бактерий (фагов).

Тема: «Морфология бактерий. Методы изучения микробов.

Простые способы окраски»

Цель:

– научиться различать формы бактерий при микроскопировании, готовить микропрепараты, окрашивать простыми способами.

Задачи:

- уметь дифференцировать различные морфологические формы бактерий;
- овладеть навыками приготовления микропрепаратов и окраски простыми методами.

МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРА БАКТЕРИЙ

1. Формы бактерий и методы их изучения.
2. Ультраструктура бактериальных клеток.
3. Простые и сложный методы окраски.

Бактерии – одноклеточные организмы, которые относятся по современной классификации Берджи (1976) к разным семействам. Они имеют разнообразную форму и довольно



сложную структуру, определяющую многообразие их функциональной деятельности. Для бактерий характерны три основные формы: сферическая (шаровидная), цилиндрическая (палочковидная) и извитая.

Морфологию микроорганизмов изучают в живом виде и окрашенных препаратах.

Микропрепараты готовят из патологического материала или чистой культуры бактерий, делая мазки на предметных стеклах с использованием бактериальной петли.

Этапы приготовления микропрепаратов из культуры микробов:

- 1) обезжирить предметное стекло (мылом или смесью Никифорова);
- 2) прокалить бактериальную петлю и нанести на стекло 2-3 капли физиологического раствора;
- 3) прокалить бактериальную петлю, обжечь край пробирки с культурой микроба, взять касательным движением петли микроорганизм из питательной среды;
- 4) внести микроб в физиологический раствор и равномерно распределить в нем;
- 5) высушить мазок на воздухе;
- 6) зафиксировать мазок на огне или в смеси Никифорова.

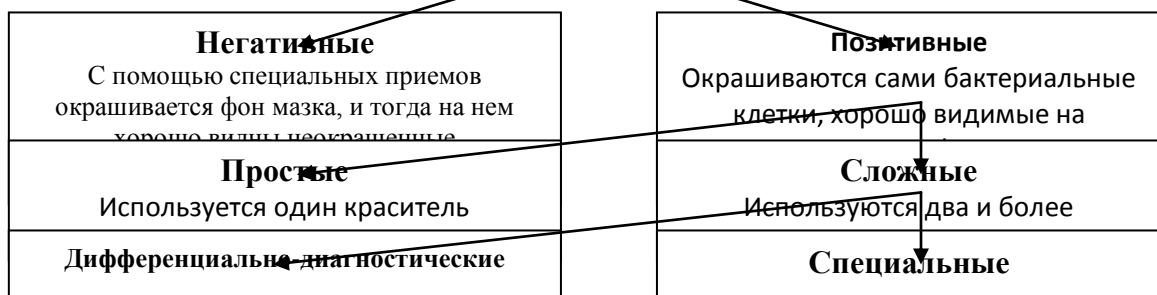
При микроскопическом методе исследования используется окраска микропрепарата.

Способность мазка воспринимать краситель называется **тинкториальным свойством**.

Для окраски препарата в микробиологической практике используются как **основные**, так и **кислые красители**. Из основных красителей наиболее часто применяются: нейтральный красный, сафранин, фуксин (красные); генцианвиолет, метилвиолет, кристаллвиолет (фиолетовый); метиленовый синий; малахитовый зеленый, а также везувин, хризоидин (коричневые). Из кислых красителей широкое применение находят: кислый фуксин, эозин (красные), конго, пикриновая кислота (желтые), нигрозин (черный).

В бактериологии различают следующие способы окраски (рис. 1).


Способы окраски



При **простом методе** используется одно окрашивающее вещество (фуксин, метиленовая синька и др.) с экспозицией 1-2 минуты. После окрашивания краситель сливают, препарат промывают и высушивают. Окраска простым способом позволяет выявить наличие или отсутствие микроорганизма, его форму, расположение клеток, определить размеры.

Сложные методы окраски выявляют химические и структурные особенности микроорганизмов, при этом обычно последовательно применяют несколько красителей.

Одним из самых распространенных сложных методов является **окраска микробов по Граму**. Этот метод был введен в 1884 году датским микробиологом Гансом Кристианом Грамом и является важным таксономическим признаком. Все бактерии по способности окрашиваться красителями трифенилметанового ряда в сочетании с йодом делятся на две большие группы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 72 -</p>
--	---	---	---------------

К одной относятся бактерии, в клетках которых комплекс, образуемый генциановым фиолетовым и йодом, удерживается при обработке их спиртом. Такие бактерии называются **грамположительными**.

К другой группе относятся бактерии, не обладающие свойством удерживать комплекс и обесцвечивающиеся при обработке спиртом. Их называют **грамотрицательными**. Способность или неспособность клеток удерживать комплекс генцианового фиолетового с йодом связывают с различным составом и структурой клеточной стенки бактерий.

**САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА
НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ**

Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Ознакомиться с правилами работы в микробиологической лаборатории	Прочитать и продумать «Правила работы студентов, работающих на кафедре микробиологии».
II. Приготовить и окрасить препараты из бактериальных культур	<ol style="list-style-type: none"> 1. Внимательно проследите за демонстрацией преподавателем техники приготовления и окраски препаратов; приготовьте мазки-препараты из культур стафилококков и кишечной палочки. 2. Окрасьте приготовленные мазки простым способом – водным фуксином и метиленовой синью; ознакомьтесь с наиболее употребительными красками, применяемыми в микробиологической практике.
III. Микроскопировать и зарисовать окрашенные мазки-препараты различных форм бактерий	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прочитайте «Правила употребления иммерсионной системы»; внимательно проследите за демонстрацией преподавателем техники микроскопии препаратов с помощью иммерсионной системы; самостоятельно промикроскопируйте один из препаратов, проверяя каждый из этапов работы. 2. Промикроскопируйте и зарисуйте мазки-препараты различных форм бактерий: круглые (стафилококк, сарцина, стрептококк), извитые (вибрион, спирилла).
IV. Сдать преподавателю выполненную работу	Дайте на просмотр преподавателю препараты и тетрадь, приведите в порядок рабочее место и сдайте его дежурному студенту.

Тема: «Строение бактериальной клетки. Сложные методы окраски. Обнаружение капсулы и оболочки, спор у бактерий»

Цель:

- научиться различать отдельные структурные элементы бактерий с использованием сложных методов окраски.

Задачи:

- овладеть навыками сложных методов окраски;
- уметь обнаруживать структурные элементы бактерий при микроскопировании.



Ультраструктура бактерий изучается с помощью электронно-микроскопических и микрохимических исследований. К обязательным структурным элементам бактерий относится оболочка, цитоплазма, ядерное вещество (нуклеоид), к необязательным – споры, жгутики, капсула, различные включения.

У грамположительных бактерий наиболее выражен муреиновый слой, у грамотрицательных – липополисахаридный. Под влиянием некоторых факторов (лизоцим, антибиотики, УФЛ и др.) происходит растворение клеточной стенки: частичное (сферопласты) или полное (протопласты). Клеточная стенка определяет форму клетки и обладает прочностью, ригидностью, регулирует осмотическое давление и аэрацию, выполняет трофическую функцию. Цитоплазматическая мембрана прилегает к внутренней поверхности стенки клетки и состоит из трех слоев: липидного, протеинового и полисахаридного. Цитоплазматическая мембрана выполняет функцию разделительной перегородки.

Нуклеоид содержит дезоксирибонуклеиновую кислоту, локализован в центральной части клетки.

Для обнаружения нуклеоида используют микрохимическую реакцию Фельгена с применением слабокислотного гидролиза. При этом освобождающаяся дезоксирибоза переходит в альдегиды, вступающие в реакцию с бесцветной фуксинсернистой кислотой специального реактива Шиффа. При этом нуклеоид окрашивается в красно-фиолетовый цвет.

Ядерную субстанцию можно выявить при электронно-микроскопических исследованиях ультратонких срезов бактерий.

Обнаруживаются **споры при окраске по методу Циля-Нильсена.**

Методика окраски по Граму

На мазок кладут фильтровальную бумагу и наливают карболовый раствор генцианового фиолетового на 1-2 минуты. Снимают бумагу и, не промывая мазок водой, наливают раствор Люголя на 1 минуту, обесцвечивая препарат в 96%-ном спирте в течение 30 секунд. Промывают водой. Красят 1-2 минуты водным раствором фуксина. Ополаскивают водой и высушивают. В результате окраски грамположительные микробы окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные – в красный.

Техника окраски: Фиксированный мазок покрывают полоской бумаги, на нее наносят карболовый фуксин Циля и несколько раз подогревают над пламенем горелки до появления паров, каждый раз подливая краситель.

1. Бумагу снимают и обесцвечивают мазок в 5%-ном растворе серной кислоты, затем промывают водой.
2. На мазок наливают раствор метиленового синего на 3-5 минут.
3. Препарат промывают водой, высушивают, микроскопируют с иммерсионной системой.

Методика окраски по Нейссеру

1. Фиксированный мазок окрашивают уксуснокислой синей 1 минуту, затем сливают краску.
2. Промывают водой и наливают раствор Люголя на 20-30 секунд.
3. Далее окрашивают везувином 1-3 мин.
4. Промывают водой, высушивают.

Тела бактерий окрашиваются в нежный светло-коричневый цвет, зерна волютинина – в темно-синий, почти черный цвет.

Метод Бурри-Гинса (выявление капсулы)



Капсулы, имея консистенцию геля, плохо удерживают краситель, и для их выявления чаще всего применяют метод негативного контрастирования.

Методика окраски по Бурри-Гинсу

1. На середину предметного стекла наносят капельку черной туши и смешивают ее с каплей культуры капсульных бактерий с помощью петли.
2. Краем другого предметного стекла делают мазок по типу кровавого. Мазок сушат на воздухе и фиксируют в пламени горелки.
3. Окрашивают 5 минут карболовым фуксином, разведенным водой 1:3.
4. Осторожно промывают водой, высушивают.

Бактерии окрашиваются в красный цвет, неокрашенные капсулы контрастно выделяются на темном фоне препарата.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ


Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Изучить метод окраски по Граму	<p>1. Внимательно проследите за демонстрацией преподавателем техники окраски по Граму.</p> <p>2. Поставьте опыт окраски по Граму.</p> <p><i>Цель опыта:</i> определить, имеет ли метод Грама преимущество перед простым методом, и в чем оно состоит; определить, в каких случаях целесообразно применение метода окраски по Граму.</p> <p><i>Материал:</i> стафилококки (грамположительные бактерии) и кишечные палочки (грамотри-цательные бактерии).</p> <p><i>Ход опыта:</i> приготовить три одинаковых мазка из смеси стафилококков и кишечных палочек; окрасить один мазок водным фуксином, второй – генцианвиолетом, третий – по Граму.</p> <p><i>Результат:</i> три рисунка и их описание.</p> <p><i>Вывод:</i> (вывод содержит ответы на вопросы, поставленные в цели опыта).</p>
II. Изучить метод окраски по Цилю-Нильсену	<p>1. Внимательно проследите за демонстрацией преподавателем техники окраски по Цилю-Нильсену.</p> <p>2. Поставьте опыт окраски по Цилю-Нильсену.</p> <p><i>Цель опыта:</i> определить, имеет ли метод Циля-Нильсена преимущество перед простым способом окраски, и в чем оно состоит; в каких случаях целесообразно применение этого метода.</p> <p><i>Материал:</i> два мазка из смеси туберкулезной палочки (кислотоустойчивые бактерии) и кишечных палочек (кислотоподатливые бактерии).</p> <p><i>Ход опыта:</i> окрасьте один мазок простым способом (метиленовой синью), второй — по Цилю-Нильсену.</p> <p><i>Результат:</i> два рисунка и их описание.</p>



	<p><i>Вывод.</i> 3. Изобразите критерии окраски по Цилю-Нильсену в виде схемы.</p>
III. Сдать выполненную работу преподавателю	Дайте на просмотр преподавателю препараты и тетрадь, приведите в порядок рабочее место и сдайте его дежурному студенту.
IV. Изучить капсулы бактерий	Промикроскопируйте и зарисуйте демонстрационный препарат из культуры палочки Фридлиндера, окрашенный по способу Гинса; капсулы на рисунке укажите стрелкой.
V. Изучить споры бактерий	Промикроскопируйте и зарисуйте мазок из культуры антракоидной палочки, окрашенной по способу Циля-Нильсена; споры на рисунке отметьте стрелкой.
VI. Изучить жгутики бактерий и подвижность	1. Внимательно проследите за демонстрацией преподавателем техники приготовления и микроскопирования препаратов «раздавленной» и «висячей» капли. Приготовьте препараты из культуры подвижных бактерий. 2. Промикроскопируйте демонстрационные пробирки с полужидким агаром, засеянные подвижными и неподвижными микробами. Результаты зарисуйте и дайте объяснение их в дневник.
VII. Изучить включения бактерий	Промикроскопируйте и зарисуйте готовые мазки из культур дифтерийной и сенной палочек. Включения на рисунке отметьте стрелкой и объясните в дневнике причину окраски тела и включений бактерий в разные цвета.
VIII. Изучить ультрамикроскопическую структуру бактерий	Посмотрите таблицы с электронограммами бактерий и обсудите вместе с преподавателем тонкую структуру клеточной стенки, строение цитоплазматической мембраны, включений.
IX. Сдать выполненную работу	Продемонстрируйте преподавателю приготовленные Вами препараты «раздавленной» и «висячей» капли, технику их микроскопии; дайте на просмотр преподавателю тетради; приведите в порядок рабочее место и сдайте его дежурному студенту.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Перечислить основные этапы развития микробиологии и фамилии ученых, работы которых определили появление новых этапов.
2. Перечислите основные открытия Л. Пастера, Р. Коха, И.И. Мечникова.
3. Назовите отрасли микробиологии.
4. Основные разделы медицинской микробиологии.
5. Классификационные категории в микробиологии. Что такое бинарная номенклатура?
6. Как пишутся названия микробов (приведите примеры), группы микроорганизмов?
7. Основные формы бактерий.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 76 -</p>
--	---	---	---------------

8. Как называются кокки, располагающиеся попарно? Цепочкой? Гроздьями? По четыре? Пакетами?
9. Как называются палочки, образующие споры? Не образующие споры?
10. Как называются извитые формы с одним завитком спирали? С несколькими завитками спирали?
11. Каким будет общее увеличение микроскопа: окуляр $\times 10$, объектив 8? Окуляр $\times 10$, объектив 40? Окуляр $\times 10$, объектив 90?
12. Чему равна разрешающая способность микроскопа с иммерсионным объективом? Какова роль иммерсионного масла?
13. Перечислите структурные элементы бактериальной клетки: постоянные и непостоянные.
14. Оболочка бактерий, ее биологическая роль.
15. Какую форму принимает цитоплазма, искусственно лишенная оболочки?
16. Способ выявления оболочки.
17. Капсула, ее биологическая роль у патогенных бактерий.
18. Способ выявления капсулы в препаратах.
19. Перечислите патогенные бактерии, образующие капсулу.
20. Перечислите спорообразующие палочки.
21. Биологическая роль спор.
22. Процесс образования споры, условия и время, необходимые для этого процесса.
23. Процесс прорастания вегетативных форм бактерий из спор.
24. Как могут располагаться споры в теле бактерий?
25. Способ выявления спор в препаратах.
26. Включения бактерий, их биологическая роль, способ выявления.
27. Биологическая роль жгутиков у бактерий. Как можно увидеть жгутики у бактерий?



ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Тема: «Питание и дыхание бактерий. Питательные среды.

Выделение чистых культур аэробов и анаэробов. Бактериологический метод исследования»

Цель:

- на основании знания особенностей физиологии микроорганизмов научиться проводить бактериологический метод исследования.

Задачи:

- освоить механизм питания и дыхания бактерий;
- научиться методам культивирования аэробов и анаэробов;
- овладеть основными методами микробиологической техники;
- уметь выбрать питательную среду для культивирования микробов (аэробов и анаэробов);
- овладеть методами выделения чистых культур и их идентификации.

Изучение физиологических и биохимических свойств микробов требует специальных методик исследования, в соответствии с чем в данном разделе изложены основы микробиологической техники, методы выделения чистых культур, идентификации, методы приготовления питательных сред, методы стерилизации и т.д.

Знание бактериологических методов исследования патологического материала служит основой для изучения всех последующих разделов микробиологической диагностики. Прежде всего, необходимо выделить чистую культуру бактерий. Для ее получения необходимо иметь питательные среды и владеть методами выделения чистой культуры.

Для культивирования микроорганизмов в баклабораториях используются искусственные питательные среды.

По химическому составу и характеру биополимеров (белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты, липиды) прокариотические клетки не отличаются от эукариотических. Основными химическими компонентами бактериальной клетки являются органогены (кислород, водород, углерод, азот, фосфор). Процесс, в ходе которого бактериальная клетка получает из окружающей среды компоненты, необходимые для построения ее биополимеров, называется **питанием**.

Метаболизм бактерий представляет собой совокупность двух противоположных, но взаимосвязанных процессов – катаболизма и анаболизма. *Катаболизм* (диссимиляция) – распад веществ в процессе ферментативных реакций и накопление выделяемой при этом энергии в молекулах АТФ. *Анаболизм* (ассимиляция) – синтез веществ с затратой энергии. Метаболизм бактерий исследуют с помощью биохимических и физико-химических методов в процессе культивирования бактерий в определенных условиях на питательных средах, содержащих те или иные субстраты.

К особенностям метаболизма у бактерий относятся:

- преобладание процессов диссимиляции над процессами ассимиляции;
- высокая интенсивность процессов метаболизма, обусловленная тем, что соотношение поверхности к единице массы больше, чем у многоклеточных;
- очень широкий субстратный спектр потребляемых бактериями веществ – от углекислого газа, азота, нитритов, нитратов до органических соединений, включая антропогенные вещества – загрязнители окружающей среды;
- очень широкий набор ферментов – это также способствует высокой интенсивности метаболических процессов.



Ферменты бактерий делятся на следующие группы: *экзоферменты*, выделяемые во внешнюю среду и действующие на субстрат вне клетки (например, протеазы, полисахаридазы, олигосахаридазы), и *эндоферменты*, действующие на субстраты внутри клетки (например, ферменты, расщепляющие аминокислоты, моносахары, синтетазы). Синтез ферментов генетически детерминирован, но его регуляция идет за счет прямой и обратной связи, т. е. для одних ферментов репрессируется, а для других иницируется субстратом. Ферменты, синтез которых зависит от наличия соответствующего субстрата в среде (например, β -галактозидаза, β -лактамаза) называются **индуцибельными**. Другая группа ферментов, синтез которых не зависит от наличия субстрата в среде, называется **конститутивными**. Они в определенных концентрациях всегда содержатся в микробных клетках.

Для диагностики, изучения и в биотехнологических целях микроорганизмы культивируют на искусственных питательных средах.

Питательные среды. Методы выделения чистых культур бактерий

Цель:

- знать питательные среды, методы выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий, методы стерилизации;
- уметь сделать посев для изолирования колоний аэробных и для культивирования анаэробных микроорганизмов.

Изучение разнообразных свойств бактерий может производиться в лаборатории только в условиях, когда микробам обеспечена возможность размножаться и проявлять свою жизнедеятельность. Одним из главных условий культивирования является применение соответствующих питательных сред. Питательные среды готовят из естественных продуктов животного и растительного происхождения (мяса, молока, яиц, сыворотки крови, овощей, дрожжей, казеина и др.), из искусственно полученных из этих продуктов веществ (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта, кукурузного экстракта и др.), или из химически чистых соединений с точно известным составом (аминокислот, углеводов, витаминов, минеральных солей).

В микробиологической промышленности существует много самых разнообразных питательных сред. В зависимости от их свойств, состава и назначения питательные среды делятся на несколько групп:

По происхождению:

- **естественные** (молоко, желатин, картофель);
- **искусственные** (приготовлены из специально подобранных природных компонентов, например: мясопептонные среды содержат мясной перевар, пептон и определенные концентрации солей);
- **синтетические** (состоят из химических солей, аминокислот, углеводов, витаминов и т.д.).


По консистенции:

(в зависимости от процентного содержания агар-агара)

- **твердые** (3-5% агар-агара);
- **полужидкие** (0,3%, 0,5% и 0,7% агар-агара);
- **жидкие** (0 % агар-агара).

По составу:

- **простые** (мясопептонный агар – МПА, мясопептонный бульон – МПБ, пептонная вода);

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 79 -</p>
--	---	---	---------------

▪ **сложные** (мясопептонная основа и различные добавки, например: кровяной агар, сывороточный агар, полужидкие углеводные среды Гисса, сахарный бульон и др.).

По назначению:

▲ **общего назначения** – для культивирования большинства бактерий (МПА, МПБ, кровяной агар и др.);

▲ **специального назначения** – для особых целей.

Среди них выделяют *элективные и дифференциально-диагностические среды*:

- желточно-солевой агар для стафилококков,
- щелочная пептонная вода для холерного вибриона;
- дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий – среды Эндо, Левина, Плоскирева.

Требования к питательным средам

1. **Питательность** (содержание всех необходимых питательных веществ).
2. **Изотоничность** (обеспечивает осмотическое равновесие между клеткой и средой, облегчает процессы осмоса и диффузии питательных веществ и продуктов метаболизма).
3. **Определенная рН** (обеспечивает функционирование ферментов бактерий).
4. **Определенный Н-потенциал** (обеспечивает окислительно-восстановительные процессы в клетке бактерий; разный для аэробов и анаэробов).
5. **Стерильность** (позволяет правильно учесть результаты).
6. **Прозрачность** (позволяет увидеть рост бактерий).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ

1. Приготовление чашек Петри с мясопептонным агаром.
2. Приготовление скошенного мясопептонного агара.
3. Посев культуры стафилококка на скошенный агар и в мясопептонный бульон.
4. Просмотр демонстрации, оформление и подпись протоколов.
5. Произвести посев смеси бактерий на чашку с питательной средой, обосновать цель посева.

Методические указания

Работа 1

Для приготовления скошенного агара пробирки с 3-4 мл расплавленного мясопептонного агара оставьте до полного застывания в наклонном положении. Угол наклона 25-30° достигается путем подкладывания под пробирки рейки.


Работа 2

Для приготовления чашек Петри с агаром фламбируйте над горелкой горлышко колбы с расплавленным мясопептонным агаром и разлейте в стерильные чашки Петри расплавленный агар. Толщина слоя агара 0,5-0,7 см.

Работа 3

При пересеве культуры на жидкие и плотные питательные среды необходимо соблюдать стерильность. В левую руку возьмите обе пробирки (с ростом культуры и питательной средой), поместите их на 2 пальца левой руки в полугоризонтальном положении и придерживайте их большим пальцем так, чтобы все манипуляции осуществлять под контролем глаза. Прокалите петлю на пламени горелки перед взятием культуры. Затем тремя пальцами правой руки (как пишущее перо) возьмите бактериологическую петлю, а мизинцем над пламенем выньте пробки из пробирок.

1. При посеве культуры на скошенный агар пробирку со средой держите в руке скошенной поверхностью вверх. Простерилизованной и охлажденной петлей возьмите

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 80 -</p>
--	---	---	---------------

материал для посева (в данном случае культуру стафилококка) и осторожно введите петлю в конденсационную жидкость скошенного агара. Затем скользящим движением по скошенной поверхности среды нанесите штрихи от одной стенки пробирки к другой снизу вверх; после посева прокалите петлю.

2. Посев культуры в агаровый столбик (уколом) производят в плотную среду (МПА) при помощи бактериологической петли. Для этого прокаленной и остуженной петлей прикасаются к культуре микроба и вносят ее в пробирку с питательной средой. Посев производят уколом в столбик среды до дна пробирки.

3 При посеве культуры бактерий в жидкие питательные среды необходимо учесть следующее: **не допускать, чтобы жидкая среда выливалась и смачивала пробку при полугоризонтальном положении пробирки.**

Бактериологический метод исследования

Это основной метод, используемый при лабораторной диагностике инфекционных заболеваний. Сущность бактериологического метода исследования – посев патологического материала от больных и выделение чистой культуры возбудителя с последующей идентификацией его по морфологическим, культуральным, тинкториальным, биохимическим и антигенным признакам.


Метод выделения чистых культур, позволяющий изолировать отдельные виды микробов из той или иной естественной среды их обитания, является важнейшим методом микробиологического исследования. Первым, кто предложил метод выделения чистой культуры, был Л. Пастер.

Способ Пастера, основанный на применении жидких питательных сред, обеспечивал выделение чистой культуры преимущественно из материала, содержащего один вид микроба (например, из крови при септицемии и др.). Он был менее эффективен в тех случаях, когда необходимо было изолировать отдельные виды микроорганизмов из их смеси. Между тем, в естественных условиях материал для бактериологического исследования (мокрота, гной, почва, вода и др.) чаще всего содержит смесь разнообразных микроорганизмов.

Успешное выделение бактериальных смесей и изолированное изучение отдельных видов стало возможным благодаря усовершенствованию метода выделения чистых культур Робертом Кохом (R. Koch), применившим для этой цели в 1881 году **плотные питательные среды**, на которых при посеве удается распределить материал таким образом, что отдельные микробные клетки располагаются изолированно друг от друга. При соответствующих условиях (питательная среда, оптимальная температура) размножение изолированных клеток дает потомство одного и того же вида, т.е. **чистую культуру данного вида микробов.**

Через известный период (чаще всего через сутки) на тех местах плотной питательной среды, на которых оказались изолированные клетки, образуются популяции размножившихся микробов – так называемые **колонии**, видимые невооруженным глазом. Они не представляют собой хаотического скопления микробов, о чем можно судить уже по тому, что для многих видов микробов колонии имеют характерную структуру, в силу чего можно ориентировочно определить флору исследуемого материала и выбрать те колонии, которые подлежат дальнейшему изучению. Пересев таких колоний на соответствующую питательную среду и представляет собой выделение чистой культуры.

Выделение чистых культур с последующей их идентификацией имеет первостепенное значение в диагностике инфекционных заболеваний, обеспечивая быстрое их распознавание, своевременное лечение и профилактику. Оно не менее важно в определении микрофлоры при исследовании санитарно-гигиенического состояния

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 81 -</p>
--	---	---	---------------

объектов внешней среды (воздух, вода, почва и т.д.), а также при выполнении научных исследований.

В настоящее время имеются многочисленные методы выделения чистых культур. Некоторые из них используются ограниченно, другие находят широкое применение. Наиболее универсальными являются излагаемые ниже методы выделения чистых культур бактерий (метод Дригальского). В то время как другие микроорганизмы – спирохеты, простейшие – требуют применения специальных методов выделения или совсем не могут быть выделены на искусственных питательных средах (некоторые простейшие, риккетсии, вирусы).

Методы выделения чистых культур из микробных смесей принято делить на две основные группы: методы, основанные на принципе механического разобщения микробов в питательной среде, и методы, основанные на использовании биологических свойств микробов. Первая группа включает методы изолирования отдельных клеток: 1) в глубине питательной среды; 2) на поверхности среды и 3) под контролем глаза. Во второй группе используют такие свойства микробов, как их подвижность, отношение к температуре, кислороду и их патогенные свойства.

Техника посева и пересева


Посевом в микробиологической практике называют внесение в стерильную питательную среду какого-либо исследуемого материала для обнаружения микроорганизмов.

Пересев – это перенос выращенных микроорганизмов в стерильную среду. Посевы и пересевы микробов являются одним из наиболее распространенных приемов в микробиологической практике.

Пересевы производят так, чтобы в питательную среду не попали из воздуха или с поверхности окружающих предметов посторонние микроорганизмы. Для этого необходимо строго соблюдать следующие приемы:

- 1) посевы производят непосредственно около зажженной горелки, в пламени которой стерилизуют петли, пинцеты, ватные пробки, края пробирок;
- 2) в левую руку берут одну пробирку с пересеваемой культурой, другую (со стерильной питательной средой) держат в наклонном положении между большим и указательным пальцами;
- 3) петлю держат в вертикальном положении над пламенем горелки и прокалывают ее металлическую часть докрасна, а затем наклоняют горизонтально и стерилизуют держатель петли;
- 4) вынимают ватные пробки и держат их безымянным пальцем и мизинцем правой руки; класть пробки на стол или на какой-нибудь предмет не рекомендуется;
- 5) обжигают края обеих пробирок;
- 6) вносят петлю в пробирку с пересеваемой культурой осторожно, не касаясь стенок, захватывают каплю жидкости или небольшое количество налета на твердой среде и переносят, стараясь не задеть стенок, во вторую пробирку с обесплощенной питательной средой;
- 7) петлю вынимают, обжигают края пробирок и внутренние концы пробок. Если ватная пробка загорится, то ею закрывают пробирку, а наружный конец гасят рукой или пинцетом;
- 8) петлю вновь обжигают в пламени, на пробирке делают соответствующую надпись: название культуры и дату посева.

Посев в жидкую среду можно производить пастеровской или градуированной пипеткой. При использовании пастеровской пипетки обожженным пинцетом следует надломить запаянный конец и слегка обжечь всю пипетку. Пробирку с исследуемой культурой

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 82 -</p>
--	---	---	---------------

помещают в левую руку, а пипетку – в правую между большим и средним пальцами, зажав ее верхнее отверстие указательным пальцем.

Вынув ватную пробку из пробирки, обжигают края последней. Осторожно опускают пипетку в пробирку и снимают указательный палец. Затем закрывают указательным пальцем верхнее отверстие пипетки, вынимают ее из пробирки. Ватную пробку и края пробирки, перед тем как закрыть, обжигают. Исследуемый материал переносят в жидкую среду. После посева пипетки помещают в дезинфицирующий раствор.

Посев на плотные среды. При посеве на косой агар наносят прямой или зигзагообразный штрих. Для этого петлю с засеваемым материалом вводят в пробирку до скопившейся на дне конденсационной воды и осторожно, не взрыхляя агар, наносят штрих. Сплошной посев получают при размазывании посевного материала по всей поверхности косого агара.

На плотной среде в чашке Петри посев производят следующим образом. Питательную среду в пробирках расплавляют на кипящей водяной бане, охлаждают до 48-50°C и разливают ровным слоем высотой 3-5 мм в стерильные чашки. Застывшую среду подсушивают в термостате в закрытых чашках в течение 20-30 минут. Открытые чашки кладут вверх дном на полки термостата, покрытые стерильной бумагой. Рядом с чашками помещают крышки. При подсушивании с поверхности питательной среды и внутренней поверхности чашек испаряется конденсационная вода. Посев делают петлей в виде параллельных штрихов или стеклянным шпателем.

При определении вида микроба и для выращивания анаэробов производят **посев уколом** в столбик агара или желатина. Для этого пробирку переворачивают кверху дном и длинной прямой иглой с посевным материалом прокалывают столбик среды сверху вниз до самого дна. Затем иглу осторожно вынимают и пробирку закрывают обожженной ватной пробкой. Если необходимы особые меры предосторожности против инфицирования, посева ведут в специальном шкафу для пересева чистых культур. Засеянные пробирки и чашки Петри помещают в термостат для выращивания.

Микроорганизмы и споры, находящиеся внутри питательных сред или на их поверхности, не могут передвигаться, а остаются в том месте, где они находились в момент застывания. Каждая клетка или спора начинает размножаться и через 2-3 дня образует **колонию** – огромное количество клеток одного вида. Если колония образовалась из одной клетки, то это будет чистая культура того микроорганизма, из клетки которого она выросла.

Выросшие колонии просматривают сначала невооруженным глазом, а затем с помощью лупы или под микроскопом. При этом нельзя не заметить, что колонии отличаются по внешнему виду, окраске, строению и т.д.

Изучение бактериальных колоний

Колонию, выросшую на агаре в чашке Петри, изучают сначала невооруженным глазом в проходящем свете. Отмечают общий характер роста и число колоний (мало, много, несчитываемое количество и т.д.), подчеркивая при этом специальными чернилами или карандашом (со стороны дна чашки) колонии, которые отличаются между собой.

Отмечают **величину** колонии (крупная, мелкая, точечная), измеряя ее окулярным микрометром и переводя в миллиметры: точечные колонии – меньше 1 мм в диаметре, видимые простым глазом; мелкие – в 1-2 мм, средние – в 2-4 мм, крупные – в 4-6 мм и более в поперечнике.

Колония может иметь правильную круглую форму; неправильную – амебовидную, розеткообразную, ризоидную или корневидную. Колонии могут быть заметно приподнятыми над средой – выпуклыми или плоскими, плосковыпуклыми; куполо-



образными с приподнятой серединой или вдавлением в центре. Отмечают характер поверхности: матовая или блестящая, гладкая или шероховатая.

Колонии могут быть с ровными краями; волнистыми (с неглубокими пологими вдавлениями), дольчатыми – глубоко изрезанными, круглозубчатыми с небольшими неглубокими зубцами; эрозированными с неровными острыми зубцами, бахромчатыми с тонкими, часто изогнутыми выростами; в виде «локонов».

Структуру колоний изучают под лупой или микроскопом со слабым увеличением, сухой системой при суженной диафрагме или несколько спущенном конденсоре, при этом чашку помещают на столик дном вверх и, передвигая ее, отмечают колонии различной структуры.

По цвету колонии могут быть очень разнообразными. Чаще они встречаются совершенно бесцветные, иногда белые, молочно-мутные, голубоватые, желтые, золотистые, золотисто-желтые, оранжевые, лимонно-желтые, сиреневые, красные и черные. Иногда в толще колонии развиваются небольшие образования сферической или неправильной формы (дочерние колонии). Они отличаются от основной колонии особой способностью преломлять свет. Механизм образования дочерних колоний не выяснен, однако отмечено, что по мере их роста материнская колония лизируется.

Консистенцию колонии определяют при прикосновении к ней петлей.

Структура и форма колоний, так же как и другие признаки, могут изменяться. Хорошо изучены S- и R-формы. S-формы круглые, гладкие, выпуклые, с ровными краями, имеют блестящую поверхность. Шероховатые R-колонии неправильной формы, с зазубренными краями и шероховатой поверхностью.

Выделение чистой культуры бактерий аэробов

Чистой культурой бактерий называют видимый рост одного вида микробов, полученных из одной клетки.

Выделение чистой культуры является основой бактериологической работы, так как в практической деятельности врачу-бактериологу приходится иметь дело с материалом, содержащим смесь микробов (гной, испражнения и т.п.). Идентификация вида возможна только тогда, когда бактерии получены в чистом, кодированном виде.

Выделение чистой культуры лежит в основе бактериологического исследования – важнейшего метода лабораторной диагностики инфекционных заболеваний.

Цель – выделение культуры и ее идентификация, что позволяет правильно поставить диагноз инфекционного заболевания.

Основная задача при выделении чистой культуры – получение отдельных колоний, т.е. скопления микробов одного вида как результата размножения одной клетки. Простейшим способом разъединения бактерий является последовательное растирание исследуемого материала стеклянным шпателем или бактериальной пипеткой по поверхности мясопептонного агара в чашках Петри.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ

Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Изучение культуральных свойств бактерий	1. Познакомиться с характером роста бактерий на жидких и плотных питательных средах (демонстрация), описать в дневнике. 2. Изучить характер роста пигментных бактерий по готовым посевам и описать в дневнике.



II. Выделение чистой культуры аэробов (I этап)

1. Ознакомиться с методом получения изолированных колоний (демонстрация преподавателя).
2. Приготовить мазок из смеси бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать и сделать вывод, к какому семейству принадлежат бактерии (мазок обязательно показать преподавателю).
3. Произвести посев смеси бактерий на чашку с питательной средой, обосновать цель высева.

Различные группы микробов в процессе метаболизма способны использовать разные типы доноров и акцепторов водорода. Н-донорами могут быть либо органические, либо неорганические вещества, Н-акцепторами – молекулярный кислород, неорганические и органические вещества. Обычный процесс окисления и восстановления называется «дыханием», если переход электронов происходит в мембранной респираторной цепи транспортировки электронов. При этом образуется АТФ. При аэробном дыхании конечным акцептором водорода является молекулярный кислород, при анаэробном – другой субстрат с относительно высоким окислительно-восстановительным потенциалом (например, ионы нитрата, сульфата или фумарата, что зависит от микроорганизма).

Молекулярный кислород явился фактором, разделившим живые существа на две неравные части: анаэробы (их немного) и аэробы (огромное количество видов).

Тип биологического окисления, как и отношение к окраске по Граму, позволяет дифференцировать различные микроорганизмы. По этому признаку можно выделить, по крайней мере, три группы бактерий.

Первая – облигатные аэробы. Они способны получать энергию только путем дыхания и поэтому нуждаются в кислороде как акцепторе протонов и электронов в окислительно-восстановительных процессах. Таким образом, **дыхание** – биологический процесс окисления различных органических веществ, при котором происходит перенос протонов и электронов от субстрата (донора) к кислороду (акцептору) и образование молекул АТФ. Органеллами дыхания у бактерий являются производные цитоплазматической мембраны – мезосомы, содержащие специальные дыхательные ферменты типа цитохромоксидаз.

Вторая группа – облигатные анаэробы – бактерии, способные расти только в среде, лишенной кислорода (кислород для них токсичен). Для них как тип окислительно-восстановительных процессов характерна **ферментация**, при которой происходит перенос протонов и электронов от субстрата-донора к субстрату-акцептору.

Третья группа – факультативные анаэробы – бактерии, способные расти как при наличии, так и в отсутствие кислорода. Среди них следует различать бактерии аэротолерантные, которые могут расти в присутствии атмосферного кислорода, но не способны его использовать, так как получают энергию исключительно с помощью брожения (например, молочнокислые бактерии), и факультативно-анаэробные бактерии (например, энтеробактерии), которые в отсутствие кислорода способны перестраиваться на брожение.

Методы культивирования анаэробных микробов

Анаэробные условия для выращивания анаэробных микроорганизмов можно создавать физическими, химическими и биологическими методами.

1. Физические методы:

- создание вакуума в специальных аппаратах (анаэростат);
- замена воздуха индифферентным газом (анаэростат);
- затруднение доступа кислорода (культивирование в глубине столбика агара на среде Вильсона-Блера № 1 – метод Вейнберга или в запаянных стеклянных трубках с агаром – метод Виньяль-Вейона).



2. Химические методы:

- культивирование на плотных питательных средах в специальных аппаратах, в которых кислород поглощается химическими веществами (аппарат Аристовского, эксикатор):
- культивирование в жидких средах в присутствии редуцирующих веществ (аскорбиновая кислота, тиогликолевая кислота и др.).

3. Биологические методы:

▲ культивирование на плотных питательных средах в герметически закупоренных чашках Петри, в которых кислород поглощается специально засеянным аэробом (метод Фортнера):

▲ культивирование в жидких средах, содержащих адсорбенты для кислорода (кусочки паренхиматозных органов - среда Китта-Тароцци, вату и пр.).


В качестве субстрата дыхания в среды для выращивания анаэробов добавляется глюкоза.

Применяемые для культивирования анаэробов среды должны перед засевом подвергаться регенерированию (т.е. освобождению от растворенного кислорода) путем кипячения в водяной бане в течение 20-30 минут с последующим быстрым охлаждением. После засева жидкие среды заливаются слоем стерильного вазелинового масла.

Для выделения чистых культур анаэробов из смеси с аэробными микробами засевают исследуемый материал на обогатительную среду (Китта-Тароцци и др.). Если искомые микробы являются спороносными, то можно прогревать засеянные пробирки при 80°C для уничтожения сопутствующей аспорогенной флоры. После суточной инкубации в термостате делают высев на чашки с плотными питательными средами и помещают их затем в анаэростат или в высокий столбик агара в узких пробирках (метод Вейнберга) для получения отдельных колоний анаэробов.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ ПО ТЕМЕ: «БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АНАЭРОБОВ»

Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Методы культивирования анаэробов	1. Ознакомиться с анаэробным эксикатором, с характером роста на средах Китта-Тароцци, Вильсона-Блера, в агаре столбиком. 2. Ознакомиться по демонстрационным посевам с методом выделения чистых культур анаэробов: по Цейслеру, Вейнбергу, Фортнеру.
II. Выделение чистых культур анаэробов (I – II этапы)	1. Разобрать и записать в дневник I этап выделения чистой культуры анаэробов. 2. Со среды Китта-Тароцци приготовить мазок, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать, сделать вывод – к какому семейству принадлежат бактерии. 3. Произвести посев со среды Китта-Тароцци по методу Вейнберга с последующим заполнением агаром трубок Вейон-Виньяла. Записать в дневник, обосновав цель посева.
III. Выделение чистой культуры анаэробов (III этап)	1. Наметить план исследования II этапа. 2. Изучить и описать выросшие на чашке колонии; для оценки правильности методики посева чашку показать преподавателю.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 86 -</p>
--	---	---	---------------

	<p>3. Отметить колонии, принадлежащие к разным видам бактерий, приготовить из них мазки, окрасить по Граму, микроскопировать и зарисовать. 4. Произвести пересев одной из колоний на косо́й агар.</p>
--	---

Оформление альбома:

- записать в виде таблицы схему описания колоний;
- зарисовать пробирки, демонстрирующие характер роста на жидких средах и пигментообразующие бактерии.



Тема: «Ферменты бактерий. Биохимическая активность микробов, бактериологический метод исследования (продолжение)»

Цель:

- освоить бактериологический метод исследования.

Задачи:

- овладеть навыками идентификации чистой культуры микроорганизмов;
- уметь определять сахаролитическую, протеолитическую активность и редуцирующую способность микроорганизмов, правильно оценивать полученные результаты.

В основе метаболических реакций, протекающих в клетке, лежит деятельность ферментов – особых белков, которые являются биокатализаторами. Ферменты обеспечивают протекание реакции в физиологических условиях. Микробы синтезируют разнообразные ферменты.

Эндоферменты — функционируют в клетке и находятся в цитоплазме.

Экзоферменты — выделяются в окружающую среду.

Конституционные ферменты — постоянно присутствуют в клетке в одинаковых концентрациях.

Изучение биохимических свойств бактерий в медицинской микробиологии является одним из основных методов при идентификации вида возбудителя. Особое значение этот метод имеет в **диагностике кишечных инфекций** (колиэнтеритов, брюшного тифа, сальмонеллезов, дизентерии).

Для **биохимической дифференциации** выделенной культуры определяются **сахаролитические и протеолитические** свойства. Для обнаружения этих свойств делают посев на дифференциально-диагностические среды, содержащие вещества, в отношении которых бактерии способны проявлять ферментативную активность.

Таблица 2

Название микроба	Сахаролитические				Протеолитические			
	Лактоза	Глюкоза	Мальтоза	Маннит	МПБ			Разжижение желатинины
					Индол	NH ₃	H ₂ S	

Ферментативные свойства бактерий

Для определения сахаролитических свойств из углеводов обычно используют лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу, маннит. Результат реакции определяется при помощи добавляемых в питательную среду различных индикаторов, дающих цветные реакции. Поэтому метод посева на дифференциально-диагностические среды получил название посева на пестрый ряд. Иногда, в так называемый длинный пестрый ряд, добавляют арабинозу, ксилозу, галактозу, инулин, крахмал и др.

При разложении углеводов происходит образование органических кислот (молочной, уксусной, муравьиной) и газа (CO₂ и H₂). Кислоты вызывают изменение pH среды, что приводит к изменению ее цвета в результате реакции индикатора. Образующийся газ вытесняет жидкость в верхней части поплавка (при использовании жидкого пестрого ряда) или вызывает разрыв агара (при применении полужидких сахаров).



Среды для определения сахаролитических свойств

Среды Гисса состоят из пептонной воды, 1% углевода и индикатора Андредде (кислый фуксин, обесцвеченный щелочью). В среду опускается поплавков, который при стерилизации заполняется средой. При сбраживании сахара бактериями, цвет среды меняется на красный, а газ скапливается в поплавке.

Полужидкие сахара состоят из 0,7% мясопептонного агара, 1% сахара и индикатора рН (водно-голубая краска и розоловая кислота). Посев производится уколом. При ферментации сахара цвет среды становится голубым, при наличии газообразования по ходу посева видны пузырьки газа, сам агар разрывается. В лабораторной практике широко применяются и другие дифференциально-диагностические среды, в состав которых входят сахара.

Протеолитические свойства бактерий (расщепление белков) определяются обнаружением **конечных продуктов ферментации белков** (индола, сероводорода, аммиака) и по способности разжижать желатину (мясопептонный бульон с 10-15% желатин).

Разжижать желатину способны микробы, выделяющие фермент типа **коллагеназы**. Процесс разжижения идет сверху, причем различные виды микробов дают характерную для них форму, потому это свойство также используется в целях идентификации бактерий.


Определение ферментации белков по конечным продуктам распада проводится при посеве на мясопептонный бульон или пептонную воду.

Таким образом, завершая работу по выделению чистой культуры, мы имеем данные о морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойствах выделенных культур бактерий. Это дает основание приступить к видовой идентификации – основной задаче последнего этапа бактериологического исследования. Для этого используют определитель Берги. Это справочное издание, каталог бактерий. В нем все микроорганизмы сгруппированы по основным биологическим свойствам. Сопоставляя свойства выделенных культур с приведенными в определителе, устанавливают их принадлежность к группе, семейству, роду и, наконец, виду.

По морфологии, типу дыхания, тинкториальным свойствам, способности к спорообразованию находят таксономическую группу для идентифицируемой культуры. По полным морфологическим, тинкториальным свойствам, типу дыхания, спорообразованию, культуральным свойствам и некоторым биохимическим признакам находят семейство, по методологическим особенностям (наличие капсул, жгутиков и т.д.), культуральным и биохимическим признакам определяют род, а внутри рода по биохимическим и антигенным свойствам устанавливают вид.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ


Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Изучение ферментативных свойств микробов (окончание)	Изучить посевы на средах «пестрого ряда», среде Ресселя, пробирке с МПБ (образование индола и сероводорода). Сравнить результаты с данными табл. «Биохимические свойства бактерий» и сделать предварительный вывод о виде выделенной культуры.
II. Выделение чистой культуры анаэробов (III этап)	Изучить характер роста культуры на среде Китта-Тароцци. Приготовить мазок, окрасить по Граму, микроскопировать. Определить отношение к окраске по

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 89 -</p>
--	---	---	---------------

	<p>Граму, и к какому семейству относится выделенная культура.</p>
--	---

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Питание бактерий: аутотрофы и гетеротрофы.
2. Классификация питательных сред.
3. Условия культивирования микробов.
4. Требования, предъявляемые к питательным средам.
5. Химический состав микробов.
6. Понятие о чистой культуре и колониях.
7. Методы выделения чистых культур аэробных микробов.
8. Этапы выделения чистой культуры аэробных бактерий.
9. Культуральные свойства бактерий.
10. Биологическое окисление у аэробных и анаэробных бактерий.
11. Методы культивирования анаэробов.
12. Методы выделения чистых культур анаэробов.
13. Значение ферментов в идентификации бактерий.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 90 -</p>
--	---	---	---------------

Тема: «Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы. Действие физических и химических факторов. Стерилизация и дезинфекция»

Цель:

- научиться методам стерилизации лабораторной посуды и питательных сред.

Задачи:

- уметь правильно подобрать соответствующий метод стерилизации различных объектов (среда, посуда, инструменты и т.д.);
- освоить основные группы дезинфицирующих веществ и механизм их действия на бактерии.

Во внешней среде на микробы действуют физические, химические и биологические факторы, которые или угнетают, или стимулирует их жизнедеятельность.

К **физическим факторам** относятся: высокая и низкая температура, высушивание, лучистая энергия, ультразвук, высокое давление.

Температура. Физиологическая деятельность любого микроорганизма приспособлена к определенному температурному оптимуму. По отношению к температуре все микроорганизмы делятся на **психрофилы** (от 0 до +10°C), **мезофилы** (от +20°C до +40°C) и **термофилы** (+50°C – +70°C). Большинство патогенных микроорганизмов относится к мезофилам.

Большинство микроорганизмов устойчивы к низким температурам (исключение составляют гонококки и менингококки). Высокая температура (+50°C – +60°C) губительно действует на вегетативные формы бактерий. Споры выдерживают кипячение до 2 часов. Губительное действие высокой температуры и лежит в основе методов стерилизации.

**Основные противоэпидемические мероприятия
в лаборатории
Стерилизация**

Стерилизация - удаление или уничтожение всех живых микроорганизмов (вегетативных и споровых форм) внутри или на поверхности предметов.

Стерилизация проводится различными методами: физическими, химическими, механическими.


Основные требования, предъявляемые к процессу стерилизации, отражены в отраслевом стандарте 42-21-2-82 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства, режимы».

Физические методы

Самым распространенным методом стерилизации является воздействие высокой температуры. При температуре, приближающейся к 100 °C, происходит гибель большинства патогенных бактерий и вирусов. Споры почвенных бактерий-термофилов погибают при кипячении в течение 8,5 часов. Микроорганизмы, попавшие в глубинные слои земли, или покрытые свернувшейся кровью, оказываются защищенными от воздействия высокой температуры и сохраняют свою жизнеспособность.

При стерилизации физическими методами применяют действие высоких температур, давления, ультрафиолетового облучения и др.

Наиболее простой, но надежный вид стерилизации - **прокаливание**. Его применяют при поверхностной стерилизации негорючих и теплоустойчивых предметов непосредственно перед их использованием.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 91 -</p>
--	---	---	---------------

Другим простым и легко доступным методом стерилизации считается **кипячение**. Этот процесс проводят в стерилизаторе — металлической коробке прямоугольной формы с двумя ручками и плотно закрывающейся крышкой. Внутри расположена вынимающаяся металлическая сетка с ручками по бокам, на которую кладут стерилизуемый инструмент. Основным недостатком метода заключается в том, что он не уничтожает споры, а только вегетативные формы.

При паровой стерилизации необходимо выполнение определенных условий, которые гарантируют ее эффективность и сохранение стерильности изделий в течение определенного срока. Прежде всего, стерилизация инструментов, операционного белья, перевязочного материала должна проводиться в упаковке. С этой целью используют: стерилизационные коробки (биксы), двойную мягкую упаковку из бязи, пергамент, влагопрочную бумагу (крафт-бумага), полиэтилен высокой плотности.

Обязательное требование к упаковке - герметичность. Сроки сохранения стерильности зависят от вида упаковки и составляют трое суток для изделий простерилизованных в коробках без фильтров, в двойной мягкой упаковке из бязи, бумаги мешочной влагопрочной. В стерилизационных коробках с фильтрами стерильность изделий сохраняется в течение года.

Стерилизация сухим жаром

Процесс стерилизации сухим жаром проводят в сухожаровом шкафу (в печи Пастера и др.) - металлическом шкафу с двойными стенками. В корпусе шкафа расположены рабочая камера, в которой имеются полки для размещения предметов для обработки, и нагревательные элементы, которые служат для равномерного нагрева воздуха в рабочей камере.

Режимы стерилизации:

температура 150 °С – 2 часа;

температура 160 °С – 170 °С – 45 минут - 1 час;

температура 180 °С – 30 минут;

температура 200 °С – 10-15 минут.

Необходимо помнить, что при температуре 160 °С бумага и вата желтеют при более высокой температуре — сгорают (обугливаются). Началом стерилизации является тот момент, когда температура в печи достигает нужной величины. После окончания стерилизации печь выключается, прибор остывает до 50 °С, после чего из него вынимают простерилизованные предметы.


Изделия в воздушном стерилизаторе можно стерилизовать без упаковки, но только в тех случаях, если они используются сразу же после стерилизации. В качестве упаковки может быть использована бумага мешочная, изготовленная по ГОСТ 2228-81, в ней изделия хранятся не менее 3-х суток.

Режим воздушной стерилизации представлен двумя значениями температуры – 160 °С в течение 2,5 часов, либо 180 °С – в течение 1 часа.

Стерилизация текучим паром

Этот вид стерилизации производится в аппарате Коха или в автоклаве при незавинченной крышке и открытом выпускном кране. Аппарат Коха представляет собой металлический полый цилиндр с двойным дном. Стерилизуемый материал загружают в камеру аппарата не плотно, для того, чтобы обеспечить возможность наибольшего контакта его с паром. Начальный подогрев воды в приборе происходит в течение 10-15 минут.

Текущим паром стерилизуют материалы, которые разлагаются или портятся при температуре выше 100 °С - питательные среды с углеводами, витаминами, растворы углеводов и т. п.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 92 -</p>
--	---	---	---------------

Стерилизацию текучим паром проводят дробным методом – при температуре не выше 100 °С по 20-30 минут в течение 3-х дней. При этом вегетативные формы бактерий погибают, а споры сохраняют жизнеспособность и прорастают в течение суток при комнатной температуре. Последующее прогревание обеспечивает гибель этих вегетативных клеток, появляющихся из спор в промежутках между этапами стерилизации.

Тиндализация – метод дробной стерилизации, при котором прогревание стерилизуемого материала проводится при температуре 56-58 °С в течение часа 5-6 дней подряд.

Пастеризация – однократное нагревание материала до 50-65 °С (в течение 15-30 минут), 70-80 °С (в течение 5-10 минут). Используется для уничтожения бесспорных форм микробов в пищевых продуктах (молоко, соки, вино, пиво).

Стерилизация паром под давлением

Стерилизация проводится в автоклаве под давлением обычно (посуда, физиологический раствор, дистиллированная вода, питательные среды, не содержащие белков и углеводов, различные приборы, изделия из резины) в течение 20-30 минут при температуре 120-121 °С (1 атм.), хотя могут быть и другие соотношения между временем и температурой в зависимости от стерилизуемого объекта.

Любые растворы, содержащие белки и углеводы, стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм. (115 °С) в течение 20-30 минут.

Любой инфицированный микроорганизмами (заразный) материал стерилизуют при давлении в 1,5 атм. (127 °С) - 1 час, или при давлении 2,0 атм. (132 °С) – 30 минут.

Когда стерилизуемые растворы находятся в стеклянных сосудах, по окончании цикла стерилизации необходимо контролировать время охлаждения, а также медленно понижать давление, т. к. открывать автоклав можно только после того, как в нем установилось давление окружающей среды.

Стерилизация облучением

Излучение может быть неионизирующим (ультрафиолетовое, инфракрасное, ультразвуковое, радиочастотное) и ионизирующим – корпускулярным (электроны) или электромагнитным (рентгеновские лучи или гамма-лучи).

Эффективность облучения зависит от полученной дозы, а выбор дозы определяется микробным загрязнением, формой и составом материала, подлежащего стерилизации.


Ультрафиолетовое облучение (254 нм) обладает малой проникающей способностью, поэтому требует достаточно длительного воздействия и используется в основном для стерилизации воздуха, открытых поверхностей в помещениях.

Ионизирующее излучение, в первую очередь, гамма-облучение, успешно применяется для стерилизации в промышленных условиях медицинских изделий из термолабильных материалов, поскольку позволяют быстро облучать материалы еще на стадии производства (при любой температуре и герметичной упаковке). В настоящее время широко используется для получения стерильных одноразовых пластмассовых изделий (шприцы, системы для переливания крови, чашки Петри) и хирургических перевязочных и шовных материалов.

Механические методы

Фильтры задерживают микроорганизмы благодаря пористой структуре матрикса, но для пропускания раствора через фильтр требуется вакуум или давление, поскольку сила поверхностного натяжения при таком малом размере пор не дает жидкостям фильтроваться.

Существуют 2 основных типа фильтров - глубинные и фильтрующие.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 93 -</p>
--	---	---	---------------

Глубинные фильтры состоят из волокнистых или гранулированных материалов (асбест, фарфор, глина), которые спрессованы, свиты или связаны в лабиринт проточных каналов, поэтому четкие параметры размера пор отсутствуют.

Частицы задерживаются в них в результате адсорбции и механического захвата в матриксе фильтра, что обеспечивает достаточно большую емкость фильтров, но может приводить к задержке части раствора.

Фильтрующие фильтры имеют непрерывную структуру, и эффективность захвата ими частиц определяется в основном соответствию их размеру пор фильтра. Мембранные фильтры имеют низкую емкость, но эффективность не зависит от скорости потока и перепада давлений, а фильтрат почти или совсем не задерживается.

Мембранная фильтрация в настоящее время широко применяется для стерилизации масел, мазей и растворов, неустойчивых к нагреванию - раствор для внутривенных инъекций, диагностические препараты, растворы витаминов и антибиотиков, сред для культур тканей и т. д. и т. п..

Химические методы

Химические методы стерилизации, связанные с применением химических веществ, обладающих явно выраженной антимикробной активностью, делятся на 2 группы: стерилизация газами и растворами (чаще известна как «дезинфекция»).


Химические методы стерилизации газами используются в лечебно-профилактических учреждениях для обеззараживания медицинских материалов и оборудования, которые нельзя стерилизовать другими способами (оптические приборы, кардиостимуляторы, аппараты искусственного кровообращения, эндоскопы, изделия из полимеров, стекла).

Бактерицидными свойствами обладают многие газы (формальдегид, окись пропилена, озон, надуксусная кислота и метилбромид), но шире всего используется окись этилена, поскольку она хорошо совместима с различными материалами (не вызывает коррозию металла, порчи обрабатываемых изделий из бумаги, резины и всех марок пластмасс). Время экспозиции при использовании газового метода стерилизации варьирует от 6 до 18 часов в зависимости от концентрации газовой смеси и объема специального аппарата (емкости) для этого вида стерилизации. Согласно «Методическим рекомендациям по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации медицинских инструментов» № 26-613 от 09.02.88 г. для стерилизации газами в качестве газового стерилизационного аппарата возможно применение микроанаэростата, а кроме окиси этилена или смеси окиси этилена с бромистым метилом, - паров 40 % формальдегида в этиловом спирте при температуре 80 °С в стерилизационной камере в течение 60 минут.

Контроль стерильности производят в специально оборудованных боксах, исключающих возможность вторичного контакта изделий с микрофлорой. Для контроля отбирают не менее 1 % из числа одновременно простерилизованных изделий. Производят посев изделий в питательную среду для контроля. При отсутствии роста бактерий дают заключение о стерильности изделия.

Стерилизация растворами применяется при обработке большинства поверхностей (пространств) или медицинских приборов, которые не могут быть обеззаражены другими методами.

Согласно требованиям отраслевого стандарта ОСТ 42-21-2-85 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» большинство изделий медицинского назначения из металла, стекла,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 94 -</p>
--	---	---	---------------

пластмасс, резины, проходят предстерилизационную обработку, состоящую из нескольких этапов:

- замачивание в моющем растворе при полном погружении изделия в дезинфицирующий раствор в течение 15-ти минут;
- мойка каждого изделия в разобранном виде в моющем растворе в ручном режиме в течение 1-ой минуты;
- ополаскивание под проточной водой хорошо промытых изделий в течение 3-10 минут;
- сушка горячим воздухом в сушильном шкафу.

Контроль качества предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения на наличие крови проводят путем постановки амидопириновой пробы. Остаточные количества щелочных компонентов моющего средства определяют с помощью фенолфталеиновой пробы.

Согласно требованиям этого же ОСТА обязательным условием стерилизации растворами изделий медицинского назначения является полное погружение изделий в стерилизационный раствор в разобранном виде, с заполнением каналов и полостей, при температуре раствора не менее 18 °С. Используют только эмалированные емкости (без повреждений) со стеклянными или пластмассовыми крышками. После стерилизации изделия быстро извлекают из раствора с помощью пинцетов или корнцангов, удаляют раствор из каналов и полостей, затем дважды последовательно промывают простерилизованные изделия стерильной водой. Простерилизованные изделия используют сразу по назначению или помещают в стерильную емкость, выложенную стерильной простыней, и хранят не более 3-х суток. В специальном журнале ведут обязательный учет всех циклов химической стерилизации с указанием даты, точного времени стерилизации (закладки, выемки раствора), название используемого препарата и его концентрации.


Препараты, используемые для стерилизации, классифицируются по группам: кислоты или щелочи, перекиси (6 % раствор перекиси водорода), спирты (этиловый, изопропиловый), альдегиды (формальдегид, глутаровый альдегид), галогены (хлор, хлорамин, иодофоры - вескодин), четвертичные аммониевые основания, фенольные соединения (фенол, крезол).

Кроме того, в качестве удобных и экономичных дезинфицирующих растворов могут использоваться универсальные препараты, т.е. позволяющие проводить обеззараживание от всех форм микроорганизмов (бактерий, в том числе микобактерий туберкулеза, вирусов, включая ВИЧ, патогенных грибов) или комбинированные препараты («Дезэффект», «Аламинал», «Септодор», «Виркон»), совмещающие одновременно два процесса - дезинфекцию и предстерилизационную обработку.

Комплекс дезинфекционных мероприятий, ориентированных на удаление или уничтожение возбудителей инфекционных болезней в объектах или на биотических объектах окружающей среды, т. е. при их передаче от источника к восприимчивым людям, делится на 2 вида: очаговая дезинфекция и профилактическая дезинфекция.

Очаговая дезинфекция осуществляется в эпидемических очагах и в свою очередь подразделяется на текущую, если источник возбудителя присутствует, и заключительную, если источник удален.

Текущая дезинфекция направлена на постоянное обеззараживание экскрементов, рвотных масс, мокроты, патологического отделяемого, перевязочного материала и др. объектов в окружении больного, которые обсеменены или могли быть обсеменены возбудителями в течение всего периода, пока больной или носитель служат источником возбудителя инфекции.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 95 -</p>
--	---	---	---------------

Заключительная дезинфекция направлена на уничтожение патогенных микроорганизмов, оставшихся в очаге в жизнеспособном состоянии и различных предметах, хотя источник удален, т. е. после госпитализации, выздоровления или смерти больного. При заключительной дезинфекции обработке подлежат помещения, экскременты, рвотные массы, белье, предметы быта и все другие объекты, которые могли быть контаминированы возбудителями данного заболевания. Этот вид дезинфекции, как правило, осуществляется специализированными службами органов госэпиднадзора.

Профилактическая дезинфекция проводится в том случае, если источник инфекции не обнаружен, но предполагается возможность его существования. Этот вид дезинфекции чаще всего используют в медицинских учреждениях (профилактика профессионального заражения медицинского персонала внутрибольничных инфекций), на предприятиях общественного питания, предприятиях, изготавливающих, перерабатывающих и реализующих пищевые продукты, а также в местах массовых скоплений людей, где может находиться источник возбудителя инфекционного заболевания среди здорового населения.

При кишечных инфекциях дезинфекционные мероприятия направлены на очистку и обеззараживание источников питьевого водоснабжения, сточных вод, отходов, пищевых продуктов, материалов от больного, посуды, белья, пищеблоков, санузлов. В очаге проводят и текущую, и заключительную дезинфекцию.

При инфекциях дыхательных путей дезинфекцию проводят с целью снижения микробного загрязнения воздуха конкретных помещений, что может достигаться путем не только влажной уборки и обеззараживания объектов в окружении больного, но и проветривания или УФ-облучения воздуха в данном помещении.

В очагах трансмиссивных инфекций дезинфекционные мероприятия проводят только при чуме, туляремии, лихорадке Ку, и на объектах, где работают с кровью.

При инфекциях наружных покровов дезинфекции подлежат все вещи, бывшие в употреблении (белье, расчески, ножницы, губки) в банях, душевых, бассейнах, парикмахерских, причем рекомендуется по возможности использовать универсальные препараты, обладающие бактерицидным (в т. ч. спорицидным), вирулицидным, фунгицидным свойствами.

При профилактике внутрибольничных инфекций дезинфекции должны подвергаться все изделия медицинского назначения после каждого пациента, руки персонала, раневая поверхность, операционное поле и т. д. и т. п.

Биологическая стерилизация - основана на применении антибиотиков, используется ограниченно - в культурах тканей для культивирования вирусов.

Контроль стерилизации


Требования по контролю за стерилизующим оборудованием изложены в «Методических указаниях по контролю работы парового и воздушного стерилизатора» 15/6 - 5 от 26.02.1991 г.

Плановый контроль работы стерилизатора проводят не реже 2-х раз в год. Самоконтроль работы стерилизатора проводят при каждой загрузке аппарата.

Контроль стерилизации осуществляется физическими, химическими и биологическими методами.

Физические и химические методы контроля являются методами оперативного контроля параметров режимов работы паровых и воздушных стерилизаторов, результаты которого учитывают в процессе стерилизационного цикла или сразу после его окончания.

Физический метод контроля осуществляют с помощью средств измерений температуры (термометры) и давления (манометры).

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 96 -</p>
--	---	---	---------------

Химический метод контроля предназначен для оперативного контроля одного или нескольких в совокупности режимов работы паровых и воздушных стерилизаторов. Осуществляют его с помощью химических тестов и термохимических индикаторов. *Химические тесты* - это запаянная с обоих концов стеклянная трубка, заполненная смесью химических соединений с органическими красителями, или только химическим соединением, изменяющим свое агрегатное состояние и цвет при достижении для него определенной температуры плавления. Упакованные химические тесты номеруют и размещают в разных контрольных точках паровых и воздушных стерилизаторов. *Термохимические индикаторы* представляют собой полоски бумаги, на одной стороне которых нанесен индикаторный слой, изменяющий свой цвет на цвет эталона при соблюдении температурных параметров режима стерилизации.

Биологический метод предназначен для контроля эффективности работы стерилизаторов на основании гибели спор тест-культур. Осуществляют его с помощью *биотестов*. Биотест - дозированное количество тест-культуры на носителе, например, на диске из фильтровальной бумаги, или помещенное в упаковку (стеклянные флаконы для лекарственных средств или чашечки из фольги). В качестве тест-культуры для контроля работы парового стерилизатора используются споры *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718, а воздушного стерилизатора - споры *Bacillus licheniformis*. После стерилизации тесты помещают на питательную среду. Отсутствие роста на питательной среде свидетельствует о гибели спор во время стерилизации.

Биологический контроль

Этот вид контроля проводят 2 раза в год. Для этого используют биотесты, предназначенные для конкретного вида паровой или суховоздушной стерилизации.

Пронумерованные пакеты с биотестами размещают в контрольных точках стерилизатора. После проведенной стерилизации в пробирки с биотестами вносят 0,5 мл цветной питательной среды, начиная со стерильной пробирки для контроля питательной среды и заканчивая контрольным тестом, не подвергавшимся стерилизации (контроль культур).

Далее пробирки инкубируют. После чего проводят учет изменения цвета питательной среды. В контроле (стерильная проба) цвет среды не изменяется. В пробирке с контролем культуры цвет среды должен измениться на цвет, указанный в паспорте, что свидетельствует о наличии жизнеспособных спор.


Работа считается удовлетворительной, если цвет питательной среды во всех биотестах не изменился. Результаты заносят в журнал и регистрируют.

При необходимости контроля за стерильностью медицинских изделий, подвергнутых стерилизации, лаборант бактериологической лаборатории или операционная сестра под руководством сотрудников баклабораторий осуществляют забор проб на стерильность.

Исследование проводят согласно «Методическим рекомендациям по контролю стерильности изделий медицинского назначения». Пробы засевают на питательные среды с соблюдением правил асептики в боксах бактериологической лаборатории. В случаях, когда контролю подвергаются изделия большого размера, пробы забирают путем смыва с них с помощью стерильной салфетки. При отсутствии роста микроорганизмов во всех посевах из проб изделий одной загрузки в стерилизатор они считаются стерильными. При наличии роста хотя бы на одной питательной среде производят повторный контроль удвоенного количества образцов из данной загрузки.

Внутренний контроль качества микробиологических исследований

Внутренний контроль качества микробиологических исследований - это комплекс мероприятий, направленных на контроль стабильности требуемых условий развития искомого микроорганизма.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 97 -</p>
--	---	---	---------------

Организацию внутреннего контроля качества проводят согласно методическим указаниям МУ 2.1.4.1057-01 Минздрава России, Москва, 2001 г.

Система качества при этом охватывает широкий спектр позиций, и, в первую очередь, нормативно-методической документации, всесторонне регламентирующей деятельность лаборатории.

Выделяют основные направления организации внутреннего контроля качества микробиологических исследований:

1. Контроль за соблюдением требований к условиям проведения лабораторного анализа.
2. Выполнение регламентированных процедур ведения тестовых культур.
3. Контроль качества питательных сред.
4. Контроль качества мембранных фильтров.
5. Контроль качества дистиллированной воды.
6. Оценка достоверности качественного результата путем использования заведомо положительных и отрицательных контролей.
7. Оценка доверительных границ полученного количественного результата.
8. Систематический анализ результатов контрольных процедур в целях совершенствования руководства по качеству.

Результаты проведенных контрольных процедур должны быть документально оформлены. Анализ результатов выполнения контрольных процедур обязательно проводить не реже 1-го раза в месяц.

Контроль температурных режимов инкубации

Контроль температуры в термостатах

Контроль температуры в термостатах проводят каждый день перед началом работы, используя поверенные термометры.

Подготовительный этап

На этом этапе для устранения искажения показаний термометра его помещают в пробирку с глицерином (парафином).

Проведение контроля

Для контроля температуры термометр помещают в центре камеры и экстремальных точках.

Перед началом работы необходимо снять показания контрольного термометра, которые заносят в журнал. Если допустимые отклонения превышены, то необходимо поставить в известность руководителя.

Контроль температуры в холодильниках

Процедуру контроля проводят один раз в неделю при температуре 4-8 °С, используя поверенные термометры.

Проведение контроля

Термометр помещают в центр камеры холодильника. Показания снимают один раз в неделю перед началом работы, и результаты измерений вносят в журнал.

В случае превышения допустимых отклонений температуры об этом необходимо поставить в известность руководителя. После приведения температуры до уровней допустимых значений, двукратно, через 4 часа и на следующий день, регистрируют температуру.

Контроль качества стерилизации и дезинфекции

Контроль режима паровой и суховоздушной стерилизации

Для контроля режимов стерилизации используют три вида контроля:

- химический (каждый цикл стерилизации);



- термический (1 раз в 2 недели);
- биологический (2 раза в год).

Химический и термический контроль режима стерилизации должен проводить оператор парового стерилизатора.

Биологический контроль проводит бактериолог или сотрудник дезинфекционных станций по заказу бактериологической лаборатории. При отрицательном результате контроля использование всей партии материала запрещается, и он повторно обрабатывается.

Химический контроль

Контроль паровой стерилизации

Этот вид контроля проводят при каждом рабочем цикле с помощью бумажных индикаторов стерилизации (НСТО «Винар») или химических веществ — тестеров.

При проведении исследования в контрольных точках рабочей камеры устанавливают герметично запаянные ампулы с химическим тестовым веществом или к стерилизационным коробкам прикрепляют индикаторные полоски.

Число контрольных точек зависит от емкости стерилизационной камеры:

- до 100,0 л - 5 контрольных точек в камере;
- 100,0 л - 750,0 л - 11 контрольных точек в камере;
- свыше 750,0 л - 13 контрольных точек в камере.

1-ая точка находится у загрузочной двери, вторая - у противоположной стенки (в вертикальном автоклаве - в верхней и нижней части камеры). В 1-ой и 2-ой точках тесты располагаются вне стерилизуемых изделий, а в остальных точках тесты располагают в центре стерилизационных коробок.

Контроль суховоздушной стерилизации

Число контрольных точек зависит от емкости стерилизационной камеры:

- до 80,0 л - 5 контрольных точек в камере;
- свыше 80,0 л (однокамерный) - 15 контрольных точек;
- свыше 80,0 л (двухкамерные) - 30 контрольных точек.

В контрольных точках рабочей камеры используют герметично запаянные ампулы с химическим тестовым веществом или индикаторную полоску, которые прикрепляют к упаковкам или стерилизуемым изделиям.

При контроле в 5 точках 1 точка располагается в центре камеры, а точки 2, 3, 4, 5 расположены в нижней части камеры по углам, причем 2 и 5 точки находятся перед загрузочной дверью справа и слева, а 3 и 4 точки - глубине камеры.


В случае 15 точек - точки 1, 2, 3 располагаются в центре камеры на трех уровнях сверху вниз; а точки 4-15 - по углам, но также на трех уровнях (точки 4-7 - низ; точки 8-11 - середина; точки 12-15 - верх). Угловые точки нумеруются против часовой стрелки, начиная с правого нижнего угла.

Если контрольных точек - 30, то для каждой камеры их расположение повторяется также как для 15 точек. При этом каждая контрольная точка должна быть расположена на расстоянии не ближе 5,0 см от стенок камеры.

После окончания цикла стерилизации индикаторные системы (ампулы с химическим тестовым веществом) извлекают из контрольных точек сравнивают с эталоном.

Термический контроль

Этот вид контроля проводят 2 раза в месяц, используя поверенный максимальный термометр, цена деления которого не более 1 °С, а диапазон измерений превышает контролируемую температуру. При этом термометр размещают в середине

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 99 -</p>
--	---	---	---------------

стерилизационной камеры. После окончания цикла стерилизации и остывания термометра до комнатной температуры, снимают показания и заносят в журнал.

Контроль качества дистиллированной воды

Дистиллированная вода используется для заправки автоклавов (паровых стерилизаторов), мытья лабораторной посуды, приготовления растворов и питательных сред, поэтому ее качество должно соответствовать требованиям ГОСТа 6709-72 и проходить контроль не реже 1 раза в месяц.

Воду, предназначенную для хранения, разливают в стеклянные или пластиковые бутылки с нижним сливом, плотно закрытые крышками.

При использовании деминерализованной воды необходимо обращать внимание на содержание микроорганизмов, которые могут размножиться на фильтрах и, соответственно, попадать в воду.

Для санитарно-микробиологического контроля состояния воды используют: ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная», ГОСТ 51446-99 «Продукты пищевые», Общие правила микробиологических исследований ISO 3696-84 «Вода для аналитических лабораторных исследований», Сертификация и методы испытания. ISO 9998: 1991(E) «Качество воды. Методы очистки и контроля микробиологического подсчета колоний в средах с применением тестов качества воды».

Центральное стерилизационное отделение

Задача центрального стерилизационного отделения (ЦСО) состоит в обеспечении лечебно-профилактических учреждений стерильными изделиями медицинского назначения: хирургическими инструментами, шприцами, иглами, контейнерами, хирургическими перчатками, лейкопластырями, перевязочными и шовными материалами и др.

Функции центрального стерилизационного отделения (ЦСО):

- прием, хранение различных материалов до их обработки и стерилизации;
- разборка, выбраковка, учет изделий;
- предстерилизационная очистка (мытьё, сушка);
- комплектование, упаковка, укладка в стерилизационную тару;
- стерилизация изделий;
- контроль качества предстерилизационной очистки и стерилизации;
- ведение документации и строгий учет приема и выдачи изделий;
- выдача стерильных изделий больницам, поликлиникам.


Помещения любого центрального стерилизационного отделения (ЦСО) обычно подразделяются на 2 зоны: нестерильную и стерильную.

В нестерильной зоне располагаются: моечная, комната изготовления, укладки и упаковки перевязочных материалов, комната обработки перчаток, стерилизационная (загрузочная сторона стерилизатора, нестерильная половина), комната контроля, комплектации и упаковки инструментов, кладовая упаковочных материалов, кабинет персонала, санитарный узел.

В стерильной зоне располагаются: стерилизационная (разгрузочная сторона стерилизатора, если они шкафного типа), склад для стерильных инструментов, экспедиция.

Уборку производственных помещений ЦСО проводят 1 раз в день с обязательным применением дезинфицирующих средств.

При планировании работы ЦСО необходимо предусматривать организацию 2-х поточной обработки:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 100 -</p>
--	---	---	----------------

1 поток - обработка и стерилизация инструментов, шприцов, игл, резиновых изделий.

2 поток - подготовка и стерилизация белья и перевязочного материала.

Классификация антисептиков по механизму действия

- 1. Поверхностно-активные* (жирные кислоты, мыла, детергенты) действуют поверхностно, вызывая повреждение клеточной стенки.
- 2. Фенол, крезол и их производные* повреждают клеточную стенку и клеточные белки.
- 3. Формальдегид* вызывает денатурацию белков не только вегетативных форм бактерий, но и спор.
- 4. Окислители* (KMnO_2 , H_2O_2) – биологические яды, активным является атомарный кислород.
- 5. Хлорсодержащие вещества* (хлорамин, хлорная известь, гипохлорид кальция) действуют благодаря выделению газообразного хлора.
- 6. Акридины* обладают сродством к нуклеиновым кислотам, нарушают процессы клеточного деления и вызывают инактивацию микроорганизмов.
- 7. Соли тяжелых металлов* вызывают коагуляцию белков, обладают бактерицидным действием по отношению к бактериям и вирусам.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ

1. Демонстрация опыта действия солнечного света на бактерии (опыт Бухнера).

На чашку Петри с МПА делают обильный посев культуры, затем на агар накладывают буквы, вырезанные из черной бумаги и предварительно простерилизованные. Открытая чашка подвергается действию прямых солнечных лучей в течение 1–1,5 часа, после чего буквы снимают и ставят чашки Петри в термостат на 24 часа. Рост культур произойдет только в тех местах, которые были защищены черными буквами от действия солнечных лучей.

2. Знакомство с автоклавом и сухожаровым шкафом.

3. Подготовка лабораторной посуды к стерилизации. Студенты готовят к стерилизации чашки Петри, колбы, пипетки и др.

4. Демонстрация бактериальных фильтров (Шамберлана, Зейтца).

5. Проведение бактериологического контроля работы автоклава. В автоклав помещают кусочек марли, смоченной тест-микробом, и помещают в автоклав. После окончания работы автоклава этот кусочек стерильным пинцетом помещают в пробирку с МПБ и инкубируют в термостате 24 часа. При правильном режиме работы МПБ остается прозрачным (стерильным).

6. Действие спирта на бактерии (опыт Алфельда и Вахле).

День первый. В две пробирки, содержащие по 5 мл 50% и 96% спирта, вносят кусочки ткани, пропитанные тест-микробами (стафилококки, кишечная палочка). Экспозиция 10 минут. После экспозиции ткань промывают стерильной водой 5 мин и помещают в пробирку с МПБ, затем инкубируют 24 ч.

День второй. Для контроля производят высев на МПА.

7. Действие хлорамина на бактерии (опыт Гепперта).

День первый. В пробирку, содержащую 3 мл 1 %-ного раствора хлорамина, вносят кусочки ткани, пропитанные тест-микробами (стафилококки, кишечная палочка). Экспозиция 10 минут. После экспозиции ткань промывают стерильной водой 5 минут и помещают в пробирку с МПБ. Посевы инкубируют в термостате 24 часа.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 101 -</p>
--	---	---	----------------

День второй. Для контроля производят высев на МПА.

8. Действие красителей на бактерии (опыт Коха и Веринга).

День первый. В две пробирки, одна из которых содержит 3 мл 5 %-ного раствора малахитовой зелени, вносят кусочки ткани, пропитанные тест-микробами. Экспозиция 10 минут. После экспозиции ткань промывают стерильной водой 5 минут и помещают в пробирки с МПБ. Посевы инкубируют в термостате 24 часа.

День второй. Для контроля производят высев на МПА.

Оформление альбома:

1. Записать определение стерилизации, методы стерилизации, режим работы автоклава, сушильного шкафа.
2. Зарисовать опыт Бухнера.
3. Записать ход и результат работы по определению антимикробного действия спирта, красителей, хлорамина и т.д.



Тема: «Санитарная микробиология. Микрофлора почвы, воздуха, воды»

Цель:

- научиться методам оценки санитарного состояния почвы, воздуха, воды.

Задачи:

- усвоить значение почвы, воздуха, воды как факторов передачи инфекции;
- овладеть навыками определения микробного числа, коли-титра, коли-индекса;
- уметь произвести забор и посев воды, воздуха и почвы на питательные среды;
- научиться учитывать и оценивать результаты исследования.

Санитарная микробиология изучает микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде, в продуктах питания, лекарственных, косметических и парфюмерных средствах, которые непосредственно или косвенно могут оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье людей.

Задачи, решаемые санитарной микробиологией, заключаются в следующем:

- разработка и оценка методов микробиологических и вирусологических исследований воздуха, воды, почвы, пищевых продуктов, предметов обихода, лекарственных препаратов;
- детальный анализ материалов, собираемых при массовых обследованиях однотипных объектов в разных условиях и выработка на этой основе нормативов, определяющих соответствие микрофлоры исследуемых субстратов санитарно-микробиологическим требованиям;
- оценка путей воздействий человека и животных на окружающую среду, которые приводят к загрязнению ее опасными для здоровья бактериями и вирусами;
- разработка рекомендаций по оздоровлению объектов внешней среды путем воздействия на их микрофлору и оценка эффективности проводимых мероприятий.

Санитарная микробиология воды

Общие вопросы

Вода - естественная среда обитания разнообразных микроорганизмов. На качественный состав микрофлоры основное влияние оказывает происхождение воды.

По происхождению различают следующие типы вод:


1. Пресные поверхностные воды, к которым относятся проточные (текучие) воды рек, ручьев и стоячие воды - озер, прудов, водохранилищ.
2. Подземные - грунтовые, почвенные, артезианские.
3. Атмосферные (включающие дождь, снег).
4. Соленые (морские и озерные воды).

По характеру использования также различают несколько типов воды:

1. Питьевая вода - централизованного и местного водоснабжения, в котором забор воды ведется из открытых водоемов (реки, водохранилища) и подземных источников (скважины, родники, колодцы).
2. Вода плавательных бассейнов.
3. Лед медицинский и лед хозяйственный.

Отдельно выделяют ввиду их особого санитарного значения сточные воды, поступающие в окружающую среду. Среди них различают:

1. Хозяйственно-фекальные (бытовые).
2. Промышленные.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 103 -</p>
--	---	---	----------------

3. Смешанные (бытовые, поступающие в окружающую среду вместе с промышленными);
4. Талые и ливневые воды, микрофлора которых приводит к загрязнению поверхностных вод.

Совокупность всех микроорганизмов, заселяющих водоемы, обозначается термином «микробный планктон», в состав которого входят автохтонная и аллохтонная микрофлора.

Автохтонная водная микрофлора – совокупность микроорганизмов, постоянно живущих и размножающихся в воде данного водоема.

В ее состав могут входить: *Micrococcus candicans*, *Micrococcus rosen*, *Sarcina spp.*, *Pseudomonas fluorescen*, различные виды родов *Proteus*, *Leptospira*, *Bacillus cereus*, *Bacillus cereus*, *Chromobacterium violaceum*, *Serras marcescens*, некоторые виды клостридий рода *Clostridium*, фаги и др.

Аллохтонная водная микрофлора – совокупность микроорганизмов, находящихся в данном водоеме временно (периодически изменяющаяся микрофлора).

В основном такие микроорганизмы находятся на дне или в прибрежной зоне поверхностных водоемов, что связано с постоянным попаданием микроорганизмов как из почвы берегов, так и с талыми, ливневыми и другими видами сточных вод. Микрофлора хозяйственно-фекальных или смешанных сточных вод – основной путь загрязнения воды, поскольку помимо устойчиво-патогенных бактерий *Escherichia spp.*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Clostridium*, грибы рода *Candida*, входящих в состав нормальной микрофлоры животных или человека, может включать и возбудителей многих инфекционных болезней, бактериальных (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*) и вирусных (энтеровирусы, аденовирусы) кишечных инфекций.

Исходя из этого, именно аллохтонная флора любого поверхностного водоема может служить источником заболеваний, передающихся фекальным, преимущественно водным путем (холера, брюшной тиф, полиомиелит, гепатит А, Е, менингиты, вызываемые вирусами Коксаки и ЕСНО, и др.).

Процесс освобождения водоема от загрязняющих его органических и патогенных микроорганизмов называется процессом самоочищения водоема.


Способность к самоочищению обусловлена присутствием в воде патогенных видов микроорганизмов, входящих в конкретный биоценоз. Количественные и качественные соотношения в биоценозах изменяются в зависимости от содержания органических веществ, то есть по сапробности.

Сапробность – комплекс особенностей водоема, в том числе состав и количество микроорганизмов в воде, содержащей органические и неорганические вещества в определенных концентрациях. По этому критерию водоемы подразделяются на:

- полисапробные зоны (зоны сильного загрязнения) – содержат большое количество легко разлагающихся органических веществ и почти полностью не содержат кислорода; количество микроорганизмов достаточно большое (общее число бактерий – 10^6 и более в 1 мл воды), но видовой состав микрофлоры ограничен и представлен преимущественно анаэробами, грибами;

- мезосапробные (зоны умеренного загрязнения) – характеризуются преобладанием окислительно-восстановительных и нитрификационных процессов; количество микроорганизмов достаточно большое (общее число бактерий – 10^5 в 1 мл воды); видовой состав микрофлоры разнообразен, с преобладанием нитрифицирующих бактерий;

- олигосапробные зоны (зоны чистой воды) – характеризуются небольшим количеством органических соединений, окончанием процесса их генерализации,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 104 -</p>
--	---	---	----------------

соответственно, окончанием процесса самоочищения; количество микроорганизмов небольшое (общее число бактерий – $10^1 - 10^2$ в 1 мл воды).

Патогенные микроорганизмы, попадающие в водоемы, достаточно распространены в полисапробных зонах, постепенно отмирают в мезосапробных и практически не обнаруживаются в олигосапробных.

Кроме того, на примере инфекционной активности вирусов было показано, что кроме степени загрязненности воды и наличия сопутствующей микрофлоры, на сроки их сохранения в воде влияют такие факторы, как температура и химический состав воды.

Установлено, что пределы выживаемости полиовирусов при температуре 4-6 °С в сточной воде составляют 180 дней, в прудовой – 130, в морской - 96, в водопроводной - 100 дней; выживаемость аденовирусов в прудовой воде при температуре 4-10 °С составляет 130 дней, а в водопроводной - 125 дней (для сравнения вирусы Коксаки А - 80 дней). Для морской воды уменьшение сроков выживания объясняется присутствием йода, обладающего сильным противовирусным действием.

Еще Гиппократ впервые высказал предположение, что вода является путем передачи «водных болезней», а Луи Мастер сумел научно обосновать ее эпидемиологическую роль, связав присутствие в загрязненной воде разнообразных микроорганизмов с возникновением инфекционных болезней у людей и животных, пользующихся этой загрязненной водой.

В настоящее время водный путь передачи характерен для таких инфекций, как холера, брюшной тиф и паратифы, дизентерия, гепатит А и В, полиомиелит, лептоспироз, сибирская язва, туляремия, туберкулез, сап, Ку лихорадка, грибковые заболевания, а также для серозного менингита, вызываемого энтеровирусами (Коксаки, ЕСНО), и керато-конъюнктивальной лихорадки, вызываемой аденовирусами.

Проведенный эпидемиологический анализ заболеваемости показал, что источником возбудителя может служить не только питьевая вода, загрязненная фекальными сточными водами, но и вода открытых водоемов, используемая для мытья пищевых продуктов (в первую очередь, фруктов и овощей) или для купания. Например, распространение заболеваний брюшным тифом, дизентерией, гепатитом А и Е, лептоспирозом в Средней Азии (Казахстан, Узбекистан, Туркмения) связано не только с потреблением воды из малых водоемов - каналов, арыков, но и купанием в них детского населения, использованием этой воды для промывания ран и царапин.


Санитарно-микробиологическое исследование воды

Отбор проб осуществляют согласно ГОСТ р 51592-2000, исследуют по МУК 4.2. 1018-01, нормируют по СанПиНу 2.1.4.1074-01.

Основной целью санитарно-микробиологического исследования является текущий санитарный надзор за качественной питьевой водой (централизованного и нецентрализованного водоснабжения), государственный санитарный контроль за качеством воды в водоемах (особенно в местах водозабора), на очистных сооружениях. Особое внимание уделяется санитарно-микробиологическому исследованию воды плавательных бассейнов, которое необходимо проводить в порядке текущего контроля и по эпидемиологическим показаниям, а также выявление водных вспышек инфекционных заболеваний и предупреждение их возникновения.

В соответствии с действующими нормативными документами текущий контроль осуществляют:

- при оценке качества питьевого водоснабжения населенных мест,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 105 -</p>
--	---	---	----------------

- при оценке санитарного состояния поверхностных вод для установления степени влияния биологической контаминации на способность воды к самоочищению;
- при контроле над обезвреживанием сточных вод;
- по эпидемиологическим показаниям для выяснения источника заболевания.

Предупредительный надзор осуществляется при:

- решении вопросов водоснабжения и канализации населенных территорий;
- санитарной оценке бассейнов, пляжей, мест коллективного пользования.

Санитарно-микробиологическое исследование проводят при:

- выборе источника централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и периодическом контроле этого источника;
- контроле эффективности обеззараживания питьевой воды централизованного водоснабжения;
- наблюдении за подземными источниками централизованного водоснабжения - артезианские скважины, почвенные воды;
- определении состояния и степени пригодности использования водных источников индивидуального водопользования (колодцев, родников);
- наблюдении за санитарно-микробиологическим состоянием воды открытых водоемов, водохранилищ, прудов, озер, рек;
- контроле эффективности обеззараживания воды плавательных бассейнов;
- проверке качества и степени очистки сточных вод;
- расследовании водных вспышек инфекционных болезней.


Особенностью санитарно-микробиологических исследований воды является необходимость количественной оценки получаемого результата. Основная специфика микробиологических исследований – изучение живого микроорганизма, обладающего индивидуальными свойствами и особенностями жизнедеятельности в условиях водной среды, создает проблемы в оценке количественного результата. К наиболее значимым объективным оценкам, влияющим на результат анализа, относятся следующие:

- неравномерность распределения микроорганизмов, обуславливающая оценку данных при анализе двух одинаковых объемов одной пробы воды;
- способность микроорганизмов адсорбироваться с образованием трудноразделимых в процессе взбалтывания источников, которые могут регистрироваться как один микроорганизм.
- влияние сопутствующих микроорганизмов-антагонистов, ингибирующих развитие искомым микроорганизмов при их наличии в анализируемой воде;
- возможное присутствие в исследуемой воде посторонних химических веществ либо образование их соединений с компонентами питательной среды, которые могут угнетать или стимулировать рост исследуемых микроорганизмов;
- нахождение микроорганизмов в некультивируемом («стрессовом состоянии под воздействием неблагоприятных условий внешней среды, в результате которого ингибируется их способность к развитию).

Забор проб

(ГОСТ р 51592-2000 «Методы отбора, хранения и транспортировки проб»)

Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материала, не влияющего на жизнедеятельность микроорганизмов.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 106 -</p>
--	---	---	----------------

При отборе воды из распределительных систем пробы берут из крана после предварительной его стерилизации (обжигания) и спуска воды в течение 10-ти минут при полностью открытом кране.

Для взятия глубинных проб из открытых водоемов и колодцев, бассейнов используют приборы: батометры, прибор Исаченко. При отсутствии батометров пробу воды можно отбирать с помощью бутылки или колбы, в крышку которых вмонтированы две стеклянные трубки, соединенные резиновым шлангом. Посуда обязательно должна быть стерильной. Для взятия проб питьевой воды используют стерильные стеклянные емкости (0,5 л-1,0 л).

Воду наливают в бутылки с соблюдением стерильности, не смачивая пробки.

Родниковую воду берут непосредственно из струи или из середины текущего родника на расстоянии 10,0-15,0 см от поверхности дна.

Артезианскую или колодезную воду забирают на глубине 10,0-15,0 см.

Из открытых водоемов, как правило, берут серию проб на разном удалении от берега и на различной глубине.

Для санитарно-гигиенического анализа льда берут кусок весом не более 2,0 кг. В лаборатории его обмывают стерильной водой и стерильным инструментом из глубины вырезают несколько кусочков так, чтобы образовавшаяся масса была около 500,0 г.

Пробы сточных вод также забирают в стерильные бутылки. В некоторых случаях для выяснения источника распространения инфекции приходится исследовать сточные воды из больничных отделений или жилых домов.

В соответствии с санитарными правилами и нормативами «Питьевая вода». Гигиенические требования к качеству воды централизованной системы питьевого водоснабжения» питьевая вода должна быть безопасной в эпидемиологическом отношении, что определяется соответствующими нормативами (табл. 3):

1. общее число микроорганизмов (ОМЧ) (КОЕ/мл);
2. общие колиформные бактерии (ОКБ) (КОЕ/100,0 мл);
3. термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) (КОЕ/100,0 мл);
4. споры сульфитредуцирующих клостридий (КОЕ/20,0 мл);
5. колифаги (БОЕ/100,0 мл).


Таблица 3

**Санитарно-гигиенические показатели и нормативы качества питьевой воды
в соответствии с СанПиН 2.1.4.1074-01**

Санитарно-гигиенические показатели	Нормативы качества воды
Общее число микроорганизмов (ОМЧ) (КОЕ/мл)	Не более 50
Общие колиформные бактерии (КОЕ/100,0 мл)	Отсутствие
Термотолерантные колиформные бактерии (КОЕ/100,0 мл);	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий (КОЕ/20,0 мл);	Отсутствие
Колифаги (БОЕ/100,0 мл).	Отсутствие

Примечание:

– при обнаружении в пробе питьевой воды термотолерантных колиформных бактерий или общих колиформных бактерий, или колифагов проводится их определение в повторно взятых пробах;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 107 -</p>
--	---	---	----------------

– при обнаружении в повторно взятых пробах воды общих колиформных бактерий в количестве 2 в 100,0 мл и колифагов проводится исследование проб воды для определения патогенных бактерий кишечной группы и энтеровирусов. Микробиологический контроль питьевой воды должен проводиться для поверхностных источников ежемесячно (12 раз в год), в то время как для подземных источников - 4 раза в год по сезонам.

Санитарная микробиология воздуха

Общие вопросы

Воздух является средой, в которой микроорганизмы не способны размножаться, что обусловлено отсутствием в воздухе питательных веществ, недостатком влаги, губительным действием солнечных лучей. Жизнеспособность микроорганизмов в воздухе обеспечивается нахождением в частицах воды, слизи, пыли, кусочках почвы.

Микрофлору воздуха условно разделяют на постоянную и резидентную (автохтонную) и транзитную или временную (аллохтонную).

К представителям резидентной (автохтонной) микрофлоры, которая в основном формируется за счет микроорганизмов почвы, относят пигментообразующие кокки (*Micrococcus roseus*, *Micrococcus flavus*, *Sarciflava alba*), бациллы (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus maceran*), актиномицеты (*Actinomyces spp.*), грибы (*Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*).

Транзитная (аллохтонная) микрофлора воздуха формируется преимущественно за счет микроорганизмов почвы, а также за счет видов, поступающих с поверхности водоемов и из организма людей и животных.


При этом каждый человек или животное при обычном дыхании, разговоре, кашле выделяют так называемый аэрозоль, который представляет собой коллоидную систему, состоящую из воздуха, капелек жидкости или частиц твердого вещества, включающих большое количество микроорганизмов. В процессе чихания при сильной экспирации образуется до 40 000 капель. В зависимости от размера капель, их электрического заряда, скорости движения в воздухе аэрозоль может иметь капельную и пылевую фазы, а также капельные ядрышки. Капельная фаза представлена мелкими каплями, длительно сохраняющимися в воздухе и высыхающими прежде, чем они успевают осесть.

Пылевая фаза представлена крупными, быстро оседающими, испаряющимися каплями, в результате образуется пыль, способная подниматься в воздушную среду. В бактериальной пыли могут выживать только особо устойчивые виды микроорганизмов: микобактерии туберкулеза (до месяца), спорообразующие бактерии, некоторые виды грибов.

Капельные ядрышки - это мелкие капельки аэрозоля, которые остаются в воздухе во взвешенном состоянии и образуют аэродисперсную систему. В них частично сохраняется влага (слизь мокроты), которая обволакивает клетку возбудителя, поддерживая жизнедеятельность микроорганизмов длительное время (*Corynebacterium diphtheriae* – в течение суток, а микобактерии туберкулеза – до 18-ти дней). В составе капельных ядрышек бактерии могут переноситься на значительные расстояния.

В соответствии с тремя фазами бактериального аэрозоля различают три вида аэрогенного пути передачи инфекционного агента: воздушно-капельный, капельно-ядерный, пылевой. Возможно также попадание микробов в воздух со слушающимся эпидермисом кожных покровов, с пылью загрязненного постельного белья и зараженной почвы.

Через воздух передается целый ряд респираторных заболеваний, которые так и называются - инфекции дыхательных путей с воздушно-капельным и воздушно-пылевым механизмами передачи.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 108 -</p>
--	---	---	----------------

Контаминация воздуха закрытых помещений патогенными микроорганизмами происходит в основном воздушно-капельным путем - при разговоре, кашле, чихании от больных людей или носителей возбудителей инфекционных болезней, поражающих верхние дыхательные пути.

К таким инфекциям относятся легочная форма чумы, сибирской язвы и бруцеллеза, коклюш, скарлатина, дифтерия, менингит, туберкулез, риносклерома, оспа, грипп, корь, ветряная оспа, эпидемический паротит, вирусные инфекции дыхательных путей, называемые ОРВИ, - острые респираторные вирусные инфекции (вирусы размножаются и накапливаются в эпителии слизистой оболочки дыхательных путей) Ку-риккетсиоз.

Помимо температуры и влажности на выживаемость и распространение микроорганизмов в воздухе значительное влияние оказывает такой фактор, как направление воздушных потоков в помещении. Горизонтальные конвекционные токи воздуха способствуют распространению микробов в пределах помещения или этажа при наличии общего коридора, поэтому микробиологические лаборатории в многоэтажных инфекционных больницах следует располагать в верхних этажах.

В воздухе закрытых помещений накапливается микрофлора, выделяемая через дыхательные пути человека. Наличие в воздухе гемолитических стафилококков указывает на загрязнение воздуха микроорганизмами, выделяемыми из носоглотки людей. В воздухе нежилых помещений стафилококки, как правило, отсутствуют. Количество микробов в рабочих и жилых помещениях находится в тесной связи с санитарно-гигиеническим режимом помещения.

Общее количество микроорганизмов в $1,0 \text{ м}^3$ воздуха операционных не должно превышать 500 КОЕ, а после операции - 1 000 КОЕ, патогенные стафилококки не должны обнаруживаться в $250,0 \text{ л}$ воздуха. В $1,0 \text{ м}^3$ воздуха операционных, родильных домах до начала работы допускается содержание не более 20 КОЕ сапрофитов, образующихся при осаждении микробов на чашку с мясопептонным агаром в течение 40 минут.

Бактериологическая обсемененность воздуха возрастает в присутствии людей, что имеет особое значение для больничных помещений. Если в воздухе операционной содержится около 10 бактерий в $1,0 \text{ м}^3$ воздуха, в перевязочных – около 100, то в коридоре отделения - до 200 и более в $1,0 \text{ м}^3$.

Забор проб

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха включает 4 этапа:

- отбор проб воздуха;
- обработку, транспортировку и хранение проб;
- выделение микроорганизмов из изучаемой пробы;
- идентификацию выделенных культур микроорганизмов.

Отбор проб - один из наиболее ответственных моментов, поскольку лежит в основе всего проводимого в дальнейшем исследования.

Атмосферный воздух исследуют в жилой зоне на уровне 0,5-2,0 м от земли вблизи источников загрязнения, а также в зеленых зонах (парки, сады) - для оценки их влияния на микрофлору воздуха.

В закрытых помещениях отбор проб проводят в 5-ти различных местах обследуемого помещения (по типу «конверта»): 4 точки отбора по углам помещения (на расстоянии 0,5 м от стен), а 5-я точка отбора в центре помещения. Пробы воздуха забирают на высоте 1,6-1,8 м от пола - на уровне дыхания в жилых помещениях, или на уровне коек 0,5-0,8 м в условиях больничных палат. Пробы воздуха необходимо отбирать днем в период активной деятельности человека, после влажной уборки и проветривания помещения.



При отборе проб воздуха для выделения микроорганизмов используются седиментационный или аспирационный метод, связанный с осаждением аэробных частиц из воздуха на поверхность питательной среды. После инкубирования питательной среды подсчитывают количество выросших колоний и, соответственно, выражают микробную обсемененность воздуха в КОЕ на определенный объем (1,0 м³) исследуемого воздуха.

Микробную обсемененность воздуха - общее микробное число (ОМЧ) – определяют по правилу (формуле) Омелянского:

на 100,0 см² поверхности питательной среды за 5 минут оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10,0 л воздуха (10,0 дм³).

После соответствующего пересчета определенное значение ОМЧ выражают в КОЕ бактерий на определенный объем исследуемого воздуха, поскольку считают, что каждая колония - потомство одного жизнеспособного микроорганизма.

Седиментационный метод основан на происходящем под действием силы тяжести осаждения микроорганизмов на поверхность соответствующей питательной среды.

Чашку с питательной средой (открытую) ставят на горизонтальную поверхность на высоте рабочего стола и оставляют на определенное время. Затем чашку закрывают и инкубируют 18-24 часа, после чего подсчитывают количество выросших колоний.

Аспирационный метод основан на принудительном осаждении микроорганизмов на поверхность соответствующей плотной питательной среды (аналогичной использованной при седиментационном методе).

При осуществлении этого метода возможно использование:

- пробоотборника бактериологического аэрозоля, принцип действия которого основан на электризации частиц исследуемого воздуха в последующем осаждении их на электроде противоположного знака.

- аппарата Кротова, принцип действия которого основан на чистой механической аспирации воздуха через щель в крышке прибора, расположенной над вращающейся поверхностью питательной среды в чашке Петри, вследствие чего происходит инерционное осаждение бактерий воздуха на поверхность питательной среды. Затем чашку закрывают и инкубируют 18-24 часа, после чего подсчитывают количество выросших колоний.

Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений лечебных учреждений в зависимости от их функционального назначения и класса чистоты приведены в табл. 4.


Таблица 4

Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений лечебных учреждений в зависимости от их функционального назначения и класса чистоты (СанПиН 2.1.3.1375-03, приказ № 215 МЗ СССР от 14.04.79)

Класс чистоты	Название помещения	Санитарно-микробиологические показатели					
		Общее кол-во микроорганизмов 1,0 м ³ воздуха (КОЕ/м ³)		Кол-во колоний золотистого стафилококка в 1,0 м ³ воздуха (КОЕ/м ³)		Кол-во плесневых дрожжевых грибов в 1,0 м ³ воздуха (КОЕ/м ³)	
		До начала работы	Во время работы	До начала работы	Во время работы	До начала работы	Во время работы
Особо	Операционные,	Не	Не	Не	Не	Не	Не



чистые (А)	родильные залы, асептические боксы для гемато-логических, ожоговых паци-ентов, палаты для недоношенных детей, асептический блок аптек, стерилизационная (чистая половина), боксы бактериологических лабораторий	более 200	более 500	должно быть	должно быть	должно быть	должно быть
Чистые (Б)	Процедурные, перевязочные, предоперационные палаты и залы реанимации, детские палаты, комнаты сбора и пастеризации грудного молока, ассистентские и фасовочные аптек, помещения бактериологических и клинических лабораторий, предназначенные для проведения различных исследований	Не более 500	Не более 750	Не должно быть	Не должно быть	Не должно быть	Не должно быть
Условно-чистые	Палаты хирургических отделений, коридоры, при-мыкающие к операционным, родильным залам, смотровые, боксы и палаты инфекционных отделений, ординаторские, материальные, кладовые чистого белья	Не более 750	Не более 1000	Не должно быть	Не более 2	Не должно быть	Не должно быть
Грязные	Коридоры и помещения административных зданий, лест-ничные марши лечебно-профилактических корпусов, санитарные комнаты для грязного	Не нормируется					

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 111 -</p>
--	---	---	----------------

<p>белья и временного хранения отходов</p>	
--	--

Санитарная микробиология предметов обихода и медицинского оборудования

Общие вопросы

Помимо воды, воздуха и почвы, на здоровье человека оказывают влияние и такие объекты внешней среды, как предметы обихода и медицинское оборудование, используемое в диагностических или терапевтических целях, соприкосновение с которыми обеспечивает контактно-бытовой путь передачи инфекционных заболеваний.

При этом необходимо помнить, что путь распространения инфекционных заболеваний, связанный с врачебными манипуляциями, в последнее время очень часто выделяется отдельный - искусственный (артифициальный), т.к. может моделировать не только контактно-бытовой путь передачи через промежуточный объект (косвенный контакт) (руки и одежда медицинского персонала, различного рода лабораторные обследования с использованием приборов медицинского назначения - бронхоскопов, цистоскопов и т. д.), а также и трансмиссивный (парентеральные и особенно внутривенные инъекции - при парентеральных гепатитах, ВИЧ инфекции).


Наиболее часто источником микробного загрязнения объектов окружающей среды (предметов обихода - посуда, предметы личной гигиены, перила, дверные ручки, телефонные трубки, детская мебель и игрушки) являются выделения человека или животных, содержащие соответствующие микроорганизмы (испражнения, отделяемое верхних дыхательных путей, слущивающийся эпителий, волосы), хотя оно возможно и из воздуха с пылью, аэрозолями, частицами почвы и каплями воды.

Исходя из этого, через предметы обихода как через промежуточный объект (косвенный контакт) чаще всего передаются возбудители респираторных (туберкулез, дифтерия, скарлатина) и кишечных (холера, дизентерия, эшерихиозы) инфекций, но могут распространяться и многие другие - сифилис, гнойно-воспалительные заболевания, раневые внутрибольничные инфекции. Основными источниками бактериального, вирусного загрязнения предметов обихода являются люди больные данными инфекционными заболеваниями или микробоносители после перенесенной инфекции.

Особо необходимо отметить роль предметов личной гигиены, обуви, одежды в широком распространении именно контактно-бытовым путем, различных инфекций кожных покровов - гнойно-воспалительных инфекций стафилококковой этиологии, герпеса и микозов, в первую очередь, поверхностных дерматомикозов (микозы стоп).

Однако необходимо помнить, что объекты окружающей среды при ряде заболеваний могут служить основным местом обитания и размножения возбудителей, так называемых сапронозных инфекций (легионеллез, бруцеллез, туляремия, заболевания, вызванные синегнойной палочкой), и соответственно, служить источником данных микроорганизмов.

Микроорганизмы, попавшие на объекты окружающей среды, как правило, не размножаются, поскольку на открытых поверхностях они погибают в первые часы, и только в трещинах, впадинах, складках, где они меньше подвергаются высыханию и инсоляции, сохраняются дольше. Эта же закономерность относится и к спорообразующим формам бактерий, например, споры возбудителей сибирской язвы годами могут находиться в изделиях из кожи, шерсти, кожи животных, погибших от этого

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 112 -</p>
--	---	---	----------------

заболевания, в связи с чем изделия из них могут представлять реальную опасность заражения.

Сроки выживаемости некоторых патогенных бактерий на различных объектах окружающей среды указаны в таблице 5.

Таблица 5

Сроки выживаемости бактерий на объектах

Микроорганизмы	Сроки выживаемости (дни)			
	на бумаге	на тканях	на игрушках	на стекле
Salmonella	60	до 80	-	до 7
Shigella	14-60	17-36	-	до 25
Streptococcus	-		15-34	до 25
Staphylococcus	1	2-36	-	-
Klebsiella	8	5-28	до 150	до 18
Bacillus	-	до 330	-	226

При обследовании детских больниц и яслей в смывах с предметов обихода (пеленальных столиков, детских игрушек), с ручек дверей была обнаружена циркуляция аденовирусов и энтеровирусов.

Санитарно-микробиологическое исследование

При проведении контроля обсемененности предметов обихода и медицинского оборудования необходимо проводить санитарно-микробиологические исследования.

Они могут быть плановыми – в детских учреждениях, родильных домах, отделениях хирургического профиля, операционных, а также в цехах приготовления пищевых продуктов или по эпидемиологическим показаниям.

Показания для проведения санитарно-микробиологического исследования предметов обихода и оборудования:

- при текущем санитарном надзоре в детских учреждениях и на пищевых предприятиях;
- при микробиологическом контроле санитарного режима лечебного учреждения;
- при обследовании в очагах по эпидпоказаниям;
- при предупредительном санитарном надзоре;
- при выяснении причин разрушения и порчи некоторых объектов.

Санитарно-вирусологическое исследование смывов с предметов обихода проводят по эпидемиологическим показаниям, в первую очередь, в детских учреждениях. Обследуют стены, полы, подоконники, ручки дверей, посуду, игрушки.

В случаях обследования предметов обихода, изготовленных из тканей других мягких пористых и ворсистых материалов метод смывов недостаточно эффективен. В этом случае нужно использовать метод аппликаций: на исследуемые предметы делают аппликацию из однородной ткани размером примерно 5,0x10,0 см. Через определенные промежутки времени их снимают с предметов и подвергают санитарно-вирусологическому исследованию.

Обнаружение в смывах с предметов обихода минимальных количеств вирусов, свидетельствует о том, что санитарно-вирусологическое состояние обследуемого учреждения неблагоприятно и требует проведения профилактических мероприятий.

Исследования проводят согласно инструкции по бактериологическому контролю комплекса санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях (отделениях хирургического профиля, палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии) согласно приказу № 720 МЗ СССР от 31.07.78 г., нормируют по СанПиНу 2.1.3.1375-03.



«1.1. Данная инструкция по бактериологическому контролю комплекса санитарно-гигиенических мероприятий и контролю стерильности изделий медицинского назначения предназначена для работников бактериологических лабораторий и дезинфекционных станций системы Министерства здравоохранения осуществляющих бактериологический контроль.

1.2. Бактериологические лаборатории санитарно-эпидемиологических инфекционных станций проводят контроль не реже двух раз в год, бактериологические лаборатории лечебных учреждений контролируют санитарно-гигиенический режим (обсемененность различных объектов воздуха) один раз в месяц, а контроль стерильности инструментов, перевязочного материала, операционного белья, рук хирурга и кожа операционного поля – 1 раз в неделю.

1.3. Объектами исследования при проведении бактериологического контроля являются:

- воздушная среда;
- различные объекты внешней среды; хирургический инструментарий, перевязочный материал, белье;
- шприцы, иглы, шовный материал...;
- зонды, катетеры, бужи, резиновые перчатки и др. изделия из резиновых пластикумов;
- хирургический шовный материал, подготовленный к использованию;
- руки хирургов и кожа операционного поля....

2.1.1. Бактериологическое исследование воздушной среды предусматривает:

- определение общего содержания микробов в $1,0 \text{ м}^3$ воздуха;
- определение содержания золотистого стафилококка в $1,0 \text{ м}^3$ воздуха;
- определение содержания плесневых и дрожжевых грибов в дм^3 воздуха.

2.1.2. Отбор проб воздуха для бактериологического исследования проводят в следующих помещениях:

- операционных блоках;
- перевязочных;
- послеоперационных палатах;
- отделениях и палатах реанимации и интенсивной терапии и других отделениях, требующих асептических условий».


Исследование микробной обсемененности объектов внешней среды

(приказ № 720 МЗ СССР от 31.07.78 г., приказ № 215 МЗ СССР от 14.04.79 г.)

«2.2.1. Бактериологическое исследование микробной обсемененности предметов внешней среды предусматривает выявление стафилококка, синегнойной палочки, бактерий группы кишечных палочек и аэромонад (строго по показаниям). Забор проб с поверхностей различных объектов осуществляют взятием смывов.

2.2.2. Взятие смывов производят стерильным ватным тампоном на пробках, вмонтированных в пробирки, или марлевыми салфетками, простерилизованными в бумажных пакетах или в чашках Петри. Для смачивания тампонов в пробирки с тампонами наливают по 2,0 мл стерильного физиологического раствора.... Салфетку захватывают стерильным пинцетом, протирают физиологическим раствором из пробирки, после протирания исследуемого объекта помещают в ту же пробирку.

2.2.3. При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности исследуемого предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 114 -</p>
--	---	---	----------------

Наиболее пристальное внимание при контроле микробной поверхности объектов окружающей среды необходимо обращать на места, недоступные для мытья и дезинфекции.

Контроль за стерильностью инструментов (шприцы, иглы, системы переливания крови многократного использования, зонды, бужи и другие изделия из резины), перевязочного материала, операционного белья, рук хирурга и кожи операционного поля проводят не реже 1 раза в неделю.

При этом «3.1. забор проб на стерильность проводит операционная сестра под наблюдением сотрудника бактериологической лаборатории с соблюдением строжайших правил асептики непосредственно перед началом операции.

3.2. Для контроля стерильности используют следующие среды:

- сахарный бульон Хоттингера (0,5% и 1% глюкозы);
- тиогликолевую среду;
- бульон Сабуро.

Одновременный посев изделий на 3 вышеуказанные среды обязателен. При посеве изделия или его части непосредственно в питательную среду количество среды в пробирке (колбе, флаконе и т.д.) должно быть достаточно для полного погружения изделия или его части.

3.3. Посевы в бульон Хоттингера, тиогликолевую среду выдерживают в термостате при температуре 37 °С, среду Сабуро при температуре 20-22 °С.

Посевы инкубируют в термостате в течение 14 суток».

При контроле микробной обсемененности объектов окружающей среды исследованию на стерильность подлежат:


- инъекционные лекарственные формы;
- лекарственные формы для обработки слизистых оболочек и новорожденных;
- растворы для питья;
- шовный и перевязочный материал;
- хирургические перчатки;
- материи для первичной и повторной обработки новорожденных;
- материал для новорожденных в стерильных коробках (биксах);
- материал для операционной;
- индивидуальные комплекты для приема родов;
- зонды, катетеры и другие изделия медицинского назначения.

Посевы на стерильность хирургического инструмента

«5.1. Хирургический инструментарий с помощью стерильного пинцета извлекают из бикса или мягкой упаковки и целиком погружают в пробирки с питательными средами. Как исключение, в отдельных случаях, если простерилизованные инструменты в одной упаковке крупных размеров (иглодержатели, ранорасширители и т. д.), производят смыв с поверхности инструмента стерильной салфеткой, смоченной в стерильном физиологическом растворе или стерильной водопроводной воде, и погружают салфетку в пробирку с тиогликолевой средой. Аналогичные смывы с других инструментов засевают в пробирки со средой Хоттингера и Сабуро».

«5.2. Методика посева на стерильность игл и шприцов.

Для контроля отбирают шприцы малой емкости (1,0 мл или 2,0 мл в условиях бактериологического бокса, с соблюдением правил асептики погружают в пробирки с питательными средами отдельно цилиндр, поршень, иглы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 115 -</p>
--	---	---	----------------

При необходимости контроля шприцев большей емкости (10,0-20,0 мл и более) исследование стерильности производят методом смыва, при этом стерильной салфеткой, смоченной в стерильном физиологическом растворе или в стерильной водопроводной воде, протирают с помощью пинцета внутренние части шприца и погружают салфетку в питательную среду».

Контроль стерильности систем переливания крови многократного использования, зондов, катетеров, резиновых перчаток и других изделий проводят путем полного погружения мелких изделий или небольших отрезанных кусочков (1-2 см) в питательные среды.

Посев на стерильность хирургического шовного материала (кетгут, шелк). Подготовленный к работе кетгут в операционном блоке хранят в спиртовом растворе йода. Из раствора моток кетгута перекалывают стерильным пинцетом в стерильный 10% раствор гипосульфита натрия и выдерживают в нем в течение 24 часов при комнатной температуре, затем перекалывают в пробирки с 20,0-30,0 мл стерильной дистиллированной воды, также выдерживают в течение 24 часов при комнатной температуре.

Подготовленный к работе шелк хранят в спиртовом растворе, поэтому перед посевом шелк (лавсан) помещают на 24 часа в стерильную дистиллированную воду при комнатной температуре.

Непосредственно перед посевом кетгут (шелк) извлекают стерильным пинцетом и перекалывают в стерильную чашку Петри, затем его разрезают ножницами на мелкие кусочки длиной 1-2 см. Кетгут при этом раздергивают для лучшего прорастания микроорганизмов.

Посев и кетгута, и шелка производится одинаково – в 2 пробирки с тиогликолевой средой, 2 пробирки со средой Хоттингера, помещая в каждую пробирку по 4-5 кусочков исследуемого материала.

«6. Учет результатов. Материал считается стерильным при отсутствии роста во всех посевах. Материал не стерилен при росте микрофлоры».

Бактериологический контроль эффективности обработки кожи операционного поля и рук хирургов

Смывы с кожи операционного поля и рук хирургов производят стерильными марлевыми салфетками размерами 5x5 см², смоченными в стерильном физиологическом растворе. Марлевой салфеткой тщательно протирают ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. После забора проб марлевую салфетку помещают в широкогорлые пробирки с водой или физиологическим раствором и стеклянными бусами, выдерживают в течение 10-ти минут, производя, таким образом, отмыв марлевой салфетки. Отмывную жидкость засевают глубинным способом по 0,5 мл на две чашки Петри, а марлевую салфетку - в 0,5%-ный сахарный бульон.


Посевы инкубируют при температуре 37 °С в течение 48 часов.

«7. Учет результатов.

Кожа и руки стерильны при отсутствии роста микроорганизмов как на твердой, так и на жидкой питательной среде».

Мероприятия по профилактике внутрибольничных инфекций в акушерских стационарах (приказ № 345 МЗ РФ от 26.11.1997 г.)

В данном документе проведение микробиологического мониторинга является важным параметром эпидемиологического надзора, преследующего цель - определение

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 116 -</p>
--	---	---	----------------

этиологической структуры внутрибольничных инфекций и оценку качества противоэпидемиологического надзора и предполагает:

- обследование персонала на условно-патогенную и патогенную микрофлору осуществлять только по эпидемиологическим показаниям;
- обследование медицинского персонала на носительство золотистого стафилококка при приеме на работу и в процессе профессиональной деятельности в плановом порядке не проводится;
- родильный дом (отделение) не менее одного раза в год должно закрываться на проведение плановой дезинфекции, в том числе для проведения косметического ремонта)...

Открытие стационара, закрывшегося по эпидпоказаниям, допускается только после получения отрицательного результата лабораторного контроля окружающей среды и разрешения центров Госсанэпиднадзора. В случае планового закрытия обследование объектов окружающей среды не проводится».

Микробиологический контроль стерильности проводится в ЛПУ 1 раз в месяц, центром Госсанэпиднадзора - 1 раз в квартал.

Исследование микробной обсемененности воздушной среды

Бактериологические исследования воздушной среды предусматривают: - определение общего содержания микробов в 1 кубометре воздуха;

- определение содержания золотистого стафилококка в 1 кубометре воздуха.

Отбор проб воздуха проводят в следующих помещениях:

- оперблоках;
- перевязочных;
- послеоперационных палатах;
- отделениях и палатах реанимации и интенсивной терапии и других помещениях, требующих асептических условий.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппарата Кротова.

Скорость протягивания воздуха составляет 25 л/мин, количество пропущенного воздуха должно составлять 100 л для определения общего содержания бактерий и 250 л для определения наличия золотистого стафилококка. Исследование воздуха *седиментационным* методом допускается в исключительных случаях. В протоколе количество плесневых грибов указывают отдельно.


Примечание. При переносе аппарата Кротова из одного помещения в другое его поверхность обрабатывают дезинфицирующим раствором. Столик, внутренние стыки и крышку прибора с внутренней и внешней стороны протирают спиртом 70°.

Критерии оценки микробной обсемененности воздуха в хирургических клиниках - операционные до начала работы - не выше 500 колоний/м³, во время работы - не выше 1000 колоний/м³; и в том, и в другом случае в 250 л воздуха патогенного стафилококка не должно быть.

Контроль стерильности инструментов (шприцы, иглы, системы переливания крови многократного использования, зонды, бужи и другие изделия из резины), перевязочного материала, операционного белья, рук хирургов и кожи операционного поля (выборочно) - 1 раз в неделю.

Забор проб на стерильность проводит операционная сестра в стерильные емкости, с соблюдением строжайших правил асептики непосредственно перед проведением операции.

Бактериологический контроль эффективности обработки кожи операционного поля и рук хирургов. Марлевой салфеткой, смоченной в физиологическом растворе, протирают

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 117 -</p>
--	---	---	----------------

ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. Отмывную жидкость засевают на 2 чашки Петри с МПА, а марлевую салфетку - в 0,5% сахарный бульон.

Кожа и руки стерильны при отсутствии роста микроорганизмов как на твердой, так и на жидкой питательной среде. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 345 от 26.11.97г. «О совершенствовании мероприятий по профилактике внутрибольничных инфекций в акушерских стационарах».

Ниже приведены основные положения приказа № 345. «*Микробиологический мониторинг* – важный параметр эпидемиологического надзора, преследующий цель определить этиологическую структуру ВБИ, выявить циркуляцию госпитального штамма и оценить качество противоэпидемического режима.

Микробиологический мониторинг осуществляется лечебно-профилактическими учреждениями, оперативными отделами центров Госсанэпиднадзора, дезинфекционными станциями. Обследование персонала на условно-патогенную и патогенную микрофлору осуществляется только по эпидемиологическим показаниям. Обследование медицинского персонала на носительство золотистого стафилококка при приеме на работу и в процессе профессиональной деятельности в плановом порядке не производится».

«*Родильный дом* (отделение) не менее одного раза в год должно закрываться на проведение плановой дезинфекции, в том числе при необходимости - для косметического ремонта. Открытие стационара, закрывавшегося по эпидпоказаниям, допускается только после получения отрицательных результатов лабораторного контроля окружающей среды и разрешения центров Госсанэпиднадзора. В случаях планового закрытия обследование объектов окружающей среды не проводится, разрешение органов ГСЭН на открытие не требуется».


«*Микробиологический контроль стерильности* проводится в лечебно-профилактическом учреждении 1 раз в месяц, центрами Госсанэпиднадзора или дезинфекционными станциями - 1 раз в квартал.

Исследованию подлежат:

- ✓ лекарственные формы для инъекций,
- ✓ лекарственные формы для обработки слизистых оболочек и ухода за кожей новорожденных,
- ✓ растворы для питья,
- ✓ шовный материал,
- ✓ хирургические перчатки,
- ✓ наборы для первичной и повторной обработок новорожденных,
- ✓ материалы для новорожденных в стерилизационных коробках (биксах),
- ✓ материалы для операционной в стерилизационных коробках (биксах),
- ✓ индивидуальные комплекты для приема родов,
- ✓ зонды, катетеры,
- ✓ другие изделия медицинского назначения.

Санитарно-бактериологические исследования объектов окружающей среды проводятся в следующих случаях:

- по эпидемиологическим показаниям,
- при неудовлетворительном соблюдении санитарно-гигиенического и противоэпидемического режимов в акушерском стационаре (на усмотрение центров Госсанэпиднадзора),
- с целью контроля качества заключительной дезинфекции перед открытием акушерского стационара, закрывшегося в связи с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 118 -</p>
--	---	---	----------------

Данные бактериологического обследования новорожденных и родильниц с диагнозом ВБИ, а также медицинского персонала (больных и носителей) в совокупности с результатами санитарно-бактериологических исследований позволяют определить штаммы микроорганизмов, циркулирующих в стационаре.

В соответствии с «Методическими указаниями по микробиологическому контролю в аптеках» (1985), действующими до настоящего времени, отбор проб для бактериологического исследования (силами центров ГСЭН) различных объектов и аптеках производится не менее 2 раз в квартал; при этом пробы воздуха отбирают в следующих помещениях: асептическом блоке, стерилизационной, ассистентской, фасовочной, комнате дефектара и материальной, моечной и в зале обслуживания.

Отбор проб воздуха производят при соблюдении следующих условий:

- чистое подготовленное к работе помещение;
- закрытые форточки и двери;
- определение в помещении процента относительной влажности воздуха;
- уровень высоты отбора проб воздуха соответствует высоте рабочего стола;
- не ранее, чем за 30 мин. после влажной уборки помещения.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью приборов для бактериологического анализа воздуха - прибор Кротова в том числе.

Для определения общего содержания бактерий в 1 м³ отбор производят на 2% питательный агар, разлитый в чашки по 12-15 мл. Для определения золотистого стафилококка используют желточно-солевой агар, для определения плесневых и дрожжевых грибов - среду Сабуро.

Критерии оценки микробной обсемененности воздуха помещений аптек: общее количество колоний микроорганизмов в 1 м³ воздуха в асептическом блоке, стерилизационной, ассистентской, фасовочной, дефектарной, материальной после работы должно быть не выше 1000 (до работы 500-750, соответственно), а золотистого стафилококка, плесневых и дрожжевых грибов не должно быть в 250 л воздуха ни до, ни после работы. В моечной ОМЧ во время работы должно быть не выше 1000, золотистого стафилококка не должно быть в 250 л воздуха, количество плесневых и дрожжевых грибов до 12/м³ воздуха. В зале обслуживания аптек во время работы ОМЧ должно быть не выше 1500, количество золотистого стафилококка допускается до 100 в 1 м³, а плесневых и дрожжевых грибов - до 20 в 1 м³ воздуха.

Известно, что причиной пирогенности дистиллированной воды, предназначенной для изготовления инъекционных растворов, а также самих инъекционных растворов, в подавляющем большинстве случаев являются грамотрицательные (пирогенообразующие) микроорганизмы.

Их предельно допустимое содержание в 1 мл дистиллированной воды, используемой для приготовления инъекционных растворов, нормируется на уровне 5 КОЕ, при общем количестве 15-20 КОЕ/мл, а растворы глюкозы (5-10-25-40%), натрия хлорида (0,9%) до стерилизации, но не позднее 1-1,5 часов после изготовления должны содержать не более 50 особей в 1 мл, из них пирогенных - не более 10. При этом содержание кишечной палочки и протей в дистиллированной воде и других лекарственных формах не допускается.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ

Посев воздуха по методу Коха для определения микробного числа

Чашки Петри с МПА оставляют открытыми на определенное время (5-10 минут на общую обсемененность и не менее 40 минут на кокковую флору), затем их закрывают,



подписывают и выдерживают в термостате при температуре 37 °С, и еще 24 часа при комнатной температуре. Количество выросших колоний соответствует степени загрязненности воздуха. По приблизительному подсчету, на площадь 100 см² в течение 5 мин оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха. Площадь чашки Петри 78,5 см². Количество колоний на чашке необходимо сосчитать, затем вычислить с помощью пропорции количество в 1 м воздуха, то есть вычислить его микробное число.

Демонстрация аспирационного метода

Для исследования этим способом пользуются аппаратом Кротова. Воздух в количестве 50-100 л пропускают со скоростью 25 л в минуту над открытой чашкой Петри с МПА. Открытую чашку с питательной средой устанавливают на вращающийся столик. Воздух поступает через клиновидную щель и с силой ударяется о поверхность питательной среды, на которой фиксируются микробы. По истечении заданного времени чашку с посевом воздуха снимают, закрывают и помещают в термостат при температуре 37 °С на 24 часа.

Допустим, на чашке при подсчете обнаружено 200 колоний, воздух пропускали 2 минуты со скоростью 25 л в мин. Всего пропущено 50 л воздуха. Число микробов в 1 м воздуха равно

$$\frac{200 \times 1000}{50} = 1000$$

Демонстрация определения коли-титра воды методом мембранных фильтров

Для определения коли-титра используют нитроцеллюлозные фильтры, которые бывают 5 номеров. Для исследования воды используют фильтр № 3. Через него фильтруют 500 мл воды в течение 2,5 минут. Затем фильтр переносят стерильным пинцетом на чашку со средой Эндо (на чашку можно поместить 4 фильтра).

Через сутки инкубации в термостате при 37 °С на пленке появляются типичные красные колонии *E. coli*. Делают мазок. В случае обнаружения грамотрицательных палочек оставшуюся часть колонии пересевают в глюкозо-пептонную среду и инкубируют при 43 °С. При положительной бродильной пробе присутствие кишечной палочки считается доказанным. Например, если на фильтре образовалось 4 колонии *E. coli*, так как фильтровали 500 мл воды, то в 1 л будет 4х2=8 бактерий. Если коли-индекс равен 8, то коли-титр равен 1000:8=125.

Демонстрация определения коли-титра воды по методу Эйкмана (двухфазно-бродильный метод)

Общий объем исследуемой воды 333 мл. Исследование проводится на глюкозопептонной среде Эйкмана (вода, пептон, глюкоза). Концентрированная среда Эйкмана заливается в три флакона по 100 мл в каждый, в 3 пробирки по 1 мл и в 3 пробирки по 10 мл. Исследуемая вода засеивается во флаконы по 100 мл, в первые 3 пробирки по 10 мл, в последующие 3 по 1 мл воды. Таким образом, в 9 емкостей засеивается 333 мл воды. Посевы помещают в термостат на сутки. Далее из всех емкостей делаются высевы на среду Эндо. Для этого чашку со средой Эндо делят на 9 секторов. В зависимости от количества пробирок и флаконов, давших рост кишечной палочке на среде Эндо (красные колонии), цифровое значение коли-титра находят по специальной таблице.


Тема: «Нормальная микрофлора организма человека»

Цель:

– научиться методам определения микрофлоры организма человека.

Задачи:

– усвоить значение нормальной микрофлоры в жизнедеятельности

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 120 -</p>
--	---	---	----------------

человека;

- овладеть методами определения микрофлоры различных органов и полостей организма человека;
- уметь оценить полученные результаты.

Микрофлора тела человека

Все поверхности и полости тела человека, соприкасающиеся с внешней средой, заселены микроорганизмами.

Микрофлору организма делят на 2 группы: облигатную (постоянную) и случайную (факультативную, транзиторную). К облигатной группе относятся микроорганизмы, максимально приспособленные к существованию в организме хозяина. Они представлены сапрофитами и условно-патогенными видами.

Факультативная микрофлора является временной и необязательной. Ее присутствие определяется поступлением микробов из окружающей среды и состоянием иммунной системы организма хозяина. В состав транзиторной микрофлоры также входят сапрофитные и условно-патогенные микроорганизмы.

Каждому органу человеческого организма, сообщаемому с внешней средой, соответствует определенная микрофлора.

Микрофлора кожи

Наиболее часто обнаруживаются непатогенные бактерии: стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*, *Staph. saprophyticus*), стрептококки (*Streptococcus*), коринебактерии (*Corynebacterium xerosis*), спорообразующие бациллы (*Bacillus subtilis*), микобактерии (*Micobacterium*), а также дрожжеподобные грибы (*Candida albicans*). Примерно в 5% случаев на коже встречается патогенный стафилококк (*Staphylococcus aureus*).

Микрофлора уха

Во внутреннем ухе в норме не содержится микробов. В наружном слуховом проходе обнаруживается факультативная микрофлора, содержатся непатогенные стафилококки (*Staph. epidermidis*, *Staph. saprophyticus*) и коринебактерии (*Corynebacterium*), реже встречаются бактерии рода *Pseudomonas*, дрожжеподобные грибы (*Candida albicans*) и плесневые грибы (*Aspergillus*).

Микрофлора конъюнктивы

В состав микрофлоры конъюнктивы входят стафилококки (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*) и коринебактерии (*Corynebacterium*). В отдельных случаях - микоплазмы, адено- и герпесвирусы; в 5% случаев выделяют *S. aureus*.

Микрофлора дыхательных путей


В состав микрофлоры дыхательных путей (носовые ходы) входят в качестве облигатных микроорганизмов непатогенные стафилококки (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*), коринебактерии (*Corynebacterium*). Факультативная флора: золотистый стафилококк (*S. aureus*), стрептококки (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*), нейссерии (*Moraxella*), гемоглинофильные бактерии (*Haemophilus influenzae*).

Более многочисленная флора в носоглотке: стрептококки (*S. mitis* 80-90%), бактероиды (*Bacteroides fragilis*), а также вейлонеллы и нейссерии.

Факультативная флора может быть представлена энтеробактериями рода *Proteus* и *Klebsiella*, синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), а также фузобактериями и вибрионами.

Микрофлора полости рта

В ротовой полости новорожденного к концу 1-й недели обнаруживаются стрептококки (*Streptococcus salivarius*, *S. mitis*), анаэробные вейлонеллы, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, фузобактерии и др. микроорганизмы.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 121 -</p>
--	---	---	----------------

Основная масса микроорганизмов в ротовой полости локализуется в зубном налете. Микроорганизмы этой локализации делятся на две большие группы: 1-я - бактерии ацидофильные, способные развиваться в кислой среде (*S. lactici*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), 2-я - протеолитические микроорганизмы, вырабатывающие протеиназы (*Peptostreptococcus*, *Fusiformis*, *Veilonella*, *Neisseria*).

С поверхности десен и физиологических карманов высеваются преимущественно анаэробные микроорганизмы. Преобладают *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus*. Выделяются *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus*.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта

Качественный и количественный состав микрофлоры разных отделов пищеварительного тракта неодинаков.

В желудке могут встречаться в незначительных количествах (не более 10^3 в 1 мл) *Sarcina Ventriculi*, энтерококки, небольшое количество анаэробных палочек, лактобактерий и дрожжи.

В тонкой кишке, особенно в верхних ее отделах, обитает сравнительно мало микробов: стрептококки, аэробные лактобациллы, дифтероиды, грибы, число которых не превышает 10^2 - 10^3 , несмотря на то, что ее содержимое имеет щелочную реакцию. В нижних отделах тонкой кишки (илеоцекальный отдел) микрофлора по своему составу близка к микрофлоре толстой кишки. Микрофлора толстой кишки включает более 200 видов факультативных и облигатных анаэробных бактерий. Значительное число облигатной микрофлоры (до 95-99%) составляют анаэробные бактерии - бактероиды и бифидобактерии; факультативные анаэробы представлены главным образом *E. coli*, *S. faecalis*, *Lactobacillus*.

В значительно меньшем количестве в толстой кишке обнаруживается транзитная микрофлора: протей (*Proteus*), клебсиеллы (*Klebsiella*), а также клостридии (*Cl. perfringens*, *O. sporogenes*), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), дрожжеподобные грибы (*Candida albicans*), простейшие (*Entamoeba gingivalis*).

Микрофлора мочеполовой системы

Почки, мочеточники, моча в мочевом пузыре в норме стерильны. В наружной части уретры встречаются пептококки (*Peptococcus*), пептострептококки (*Peptostreptococcus*), коринебактерии (*Corynebacterium*), бактероиды, микобактерии (*Mycobacterium*), а также грамотрицательные бактерии фекального происхождения.

На наружных половых органах мужчин и женщин локализуются микобактерии смегмы (*Mycobact. smegmatis*), имеющие морфологическое сходство с микобактериями туберкулеза.

Микрофлора влагалища закономерно изменяется на разных этапах полового созревания. В течение первых 4 недель после рождения преобладают лактобактерии (*Lactobacillus acidophilus*), в то же время во влагалище можно обнаружить стафилококк (*Staph. saprophyticus*), стрептококк (*Streptococcus faecalis*), коринебактерии (*Corynebacterium xerosis*).

С наступлением половой зрелости появляются молочнокислые бактерии Додерлейна (крупные, Гр+палочки).

На шейке матки обнаруживаются бактерии, проникающие туда из влагалища. Полость матки у здоровых женщин стерильна.

Палочка Додерлейна слизистой влагалища является антагонистом гноеродных микробов. В зависимости от количественного соотношения палочек Додерлейна и кокковой флоры определяется степень чистоты влагалища.

I степень чистоты палочки Додерлейна



II степень чистоты	палочки Додерлейна + кокки единичные (1-5 в поле зрения)
III степень чистоты	палочки Додерлейна единичные + кокки (более 50%)

Значение нормальной микрофлоры

Положительная роль нормальной микрофлоры для организма человека связана с витаминообразующим, ферментативным, антагонистическим, иммунизирующим и другими ее свойствами.

1. Некоторые энтеробактерии (*E. coli*) синтезируют витамины группы В, витамин К, пантотеновую и фолиевую кислоты.
2. Постоянный обитатель кишечника человека *E. coli*, обладает свойствами вырабатывать пищеварительные ферменты.
3. облигатная микрофлора (молочнокислые бактерии, актиномицеты, кишечная палочка и др.) обладает выраженными антагонистическими свойствами в отношении многих возбудителей инфекционных заболеваний. Это связано с образованием антибиотических веществ, бактериоцинов, спиртов, молочной кислоты, жирных кислот, перекиси водорода и других продуктов, ингибирующих размножение патогенных видов.
4. Важную роль играет микрофлора в формировании резистентности организма.
5. Некоторые представители нормальной микрофлоры толстого кишечника участвуют в обмене жирных кислот.
6. Микроорганизмы - обитатели толстой кишки оказывают благоприятное воздействие на структуру слизистой оболочки кишечника и ее адсорбционную способность.

Понятие «дисбактериоз». Условия развития

Дисбактериоз - качественное и количественное нарушение экологического баланса между микробными популяциями в составе микрофлоры организма человека. Дисбактериоз возникает при нерациональном использовании антибиотиков широкого спектра действия (тетрациклины, левомицетин и др.), при резком снижении резистентности организма вследствие хронических инфекций, радиации, пребывании людей в экстремальных условиях.

При дисбактериозах происходит подавление микробов-антагонистов, регулирующих состав микробного биоценоза и размножение условно-патогенных микробов. Таким путем происходит нарастание и распространение микроорганизмов из родов *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, являющихся причиной внутрибольничных инфекций, дрожжеподобных грибов *Candida albicans*, вызывающих кандидозы. *E. coli*, являющихся возбудителем колиэнтеритов, особенно у детей и других заболеваний.

Вопросы для обсуждения

1. Понятие «биоценоз». Понятие «факультативные и облигатные микроорганизмы».
2. Микрофлора кожи и слизистых оболочек.
3. Микрофлора дыхательных путей.
4. Микрофлора полости рта.
5. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.
6. Микрофлора мочеполовой системы.
7. Значение нормальной микрофлоры.
8. Понятие «дисбактериоз». Условия его развития.

Самостоятельная работа студентов проводится в 2 этапа: на одном занятии производится посев материала, на втором - изучение выросших микроорганизмов.

МИКРОФЛОРА КОЖИ



Посев волоса и «отпечатков» с губ и пальцев рук на МПА

Методика. На чашки Петри со стерильной средой МПА, разделенной на 3 сектора (губы, пальцы, волосы), делают отпечатки с пальцев рук, осторожно касаясь среды. На следующий ректор укладывали 2-3 волоса, взятых стерильным пинцетом, плотно прижимая их к агару.

При посеве отпечатков с губ коснуться губами третьего сектора на МПА. Посев инкубируется в термостате 24 часа при температуре 37 °С.

МИКРОФЛОРА НОСА И ЗЕВА

Посев отделяемого из носа на кровяной агар

Методика. Чашку с кровяным МПА делят на 2 части. Слизь из носа берут стерильным тампоном и засевают ее на половину чашки. Для этого тампоном проводят полосу, параллельную линии раздела. При посеве тампон нужно вращать, чтобы он со всех сторон коснулся агара, посев распределяется простерилизованной петлей по всей поверхности соответствующей половины чашки Петри штрихами, перпендикулярно пересекающими линию, нанесенную тампоном.

Во вторую половину чашки Петри точно так же делается посев отделяемого из зева, взятого другим тампоном.

МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА

Посев кала на среду Эндо

Методика. Для определения микрофлоры кишечника делается посев испражнений на среду Эндо. Стерильной петлей берется капля испражнений и методом штриха на чашку Петри делается посев. Инкубация в термостате при температуре 37 °С и времени 24 часа.

МИКРОФЛОРА ЗУБНОГО НАЛЕТА

Методика. Для приготовления мазка материал берут с зубной бляшки (стерильным шпателем) палочкой, делают мазок на предметном стекле с физраствором, высушивают, фиксируют и окрашивают по Граму, микроскопируют.

Обнаруженные в препарате микробы сравнивают по морфологии с микроорганизмами, нарисованными на таблице «Зубной налет», рисуют и обозначают. Рисунок оформить надписью «Микроорганизмы из зубного налета, окраска по Граму».

Оформление протокола

Выписать основных представителей нормальной микрофлоры по латыни, нарисовать микропрепарат из зубного налета.

Тема: «Генетика бактерий»

Цель:

- ознакомить с особенностями генетического аппарата бактерий, механизмами рекомбинации, ролью генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.

Знать:

- механизмы изменчивости бактерий, виды рекомбинаций;
- значение конъюгативных плазмид в распространении антибиотикорезистентности и биологии бактерий.

Уметь:

- отличить модификационную изменчивость от мутационной;
- оценить бактериоциногенность культур;
- доказать плазмидную природу антибиотикорезистентности.

Генетический аппарат бактерий имеет ряд особенностей организации.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 124 -</p>
--	---	---	----------------

Особенности генетического аппарата бактерий:

1) цитологические:

- наследственный аппарат бактерий представлен нуклеоидом;
- в отличие от ядра нуклеоид не имеет ядерной мембраны;
- в нуклеоиде нет ядрышек;
- в нуклеоиде одна хромосома;
- в бактериальной клетке может быть дополнительное наследственное вещество – плаزمида;
- молекула ДНК хромосомы и плазмиды прикрепляются к ЦПМ.


2) молекулярные:

- хромосома бактерий имеет кольцевую структуру;
- хромосома бактерий — чистая двунитчатая ДНК, не содержит гистонов;
- в ДНК бактерий повышенное содержание метилированных (минорных) азотистых оснований, они выполняют защитную функцию гистонов;
- ДНК бактерий содержит Is-последовательности, строение которых аналогично таким же участкам ДНК у высших организмов;
- отмечается выраженная изменчивость нуклеотидного состава: соотношение гуанина и цитозина (Г/Ц-индекс) у бактерий имеет видовые отличия.

Важное место в генетике бактерий занимают плазмиды – дополнительные, внехромосомные элементы наследственности. Плазмиды, как и хромосома, представлена кольцевой молекулой двунитчатой ДНК, но ее размеры значительно меньше хромосомы. Плазмиды содержат структурные гены, кодирующие тот или иной признак, гены автономной репликации, Is-последовательности. У некоторых плазмид есть гены, ответственные за ее трансмиссивность (перенос, передачу). Такие плазмиды называются трансмиссивными (конъюгативными).

Основные свойства плазмид:

1. гены плазмид несут не обязательную для клетки информацию, а лишь сообщают ей селективные преимущества; без плазмид клетка существовать может, а без хромосомы нет;
2. плазмидная ДНК имеет значительно меньшую молекулярную массу, чем хромосомная;
3. плазмиды способны к автономной репликации, или их репликация находится под ослабленным контролем хромосомы;
4. для плазмид с низкой молекулярной массой характерно явление амплификации (многокопийности);
5. некоторые плазмиды (F-, R-факторы) способны находиться как в автономном, так и интегрированном с хромосомой состоянии; штаммы, у которых F-фактор интегрирован с хромосомой, – Hfr-штаммы;
6. молекула ДНК плазмид более подвержена воздействию физических и химических агентов, чем хромосомы; частота плазмидных мутаций выше, чем хромосомных;
7. некоторые физические (УФ, СВЧ и др.) и химические (акридиловые красители) агенты вызывают элиминацию (удаление, потерю) плазмид;
8. плазмиды могут содержать tra-гены и самостоятельно передаваться в процессе конъюгации, это конъюгативные плазмиды; частота передачи плазмидных генов выше, чем хромосомных; трансмиссивность (передача, перенос) плазмид может быть связана и с переносом их в клетки умеренными трансдуцирующими фагами;
9. в клетке могут находиться несколько разных плазмид, но некоторые плазмиды несовместимы между собой; по этому признаку различают группы несовместимости плазмид.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 125 -</p>
--	---	---	----------------

Плазмиды могут детерминировать разные свойства бактерий.

Различают:

1. R-плазмиды – кодируют лекарственную устойчивость.
2. F-плазида – определяет пол бактерий.
3. Col-плазмиды – детерминируют синтез бактериоцинов.
4. Hly-плазмиды – кодируют синтез гемолизинов.
5. Ent-плазида – детерминирует синтез энтеротоксина.
6. Плазмиды биодegradации – обуславливают расщепление сложных ароматических и других соединений, например, нефти, парафина, ПАВ и др.

Плазмиды играют важную роль в процессах рекомбинации (обмена генетической информацией) у бактерий.

У бактерий, как и у всех живых организмов, есть 2 типа изменчивости: фенотипическая и генотипическая. **Фенотипическая изменчивость** – это изменение только каких-либо внешних признаков, она не затрагивает генотип. Генотипическая изменчивость затрагивает не только фенотип, но и генотип. Она связана с изменениями генетического аппарата.

Проявлениями фенотипической изменчивости у бактерий являются модификации: кратковременные (в пределах одного поколения) и длительные (сохраняются в поколениях).

Отличия длительной модификации от мутации:

1. отсутствие изменений в структурных генах генотипа;
2. приобретение новых свойств большим числом особей в популяции;
3. «затухание» (исчезновение) признака в ряду поколений.

Примером фенотипической изменчивости бактерий является **диссоциация** – расщепление признака – при изменении условий культивирования: переход S-форм с гладкими колониями в R-формы с шероховатыми колониями, потеря пигмента, появление неподвижных вариантов у подвижных бактерий и т. д.

Генотипическая изменчивость бактерий связана с мутациями и рекомбинациями.

Мутации у бактерий могут быть спонтанные и индуцированные известным мутагеном. По локализации различают:

1. генные – затрагивают один ген;
2. хромосомные – затрагивают группу генов;
3. плазмидные – затрагивают гены плазмид.


Механизм мутаций Вам известен. Это: а) делеция – потеря гена или участка ДНК; б) дупликация – удвоение генетического фрагмента; в) транспозиция – изменение положения гена; г) инверсия – переворот участка ДНК на 180°; д) вставка нового гена.

Фенотипическое проявление мутаций чаще ведет к потере признака – прямая мутация или к его восстановлению – обратная мутация. Так как у бактерий одна хромосома, то частота фенотипических проявлений мутаций высока, а делеция большого участка хромосомы летальна для бактерий.

Вторым механизмом генотипической изменчивости у бактерий являются рекомбинации.

Особенности рекомбинаций у бактерий:

1. однонаправленность переноса генетической информации (от донора к реципиенту);
2. неодинаковое доленое участие генома донора и реципиента в образовании рекомбинанта (реципиентный геном полностью переходит к рекомбинанту, а от донора – только отдельные гены, плазмиды);
3. в результате рекомбинации образуется мерозигота (частичная зигота);

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 126 -</p>
--	---	---	----------------

4. наличие нескольких механизмов рекомбинаций: конъюгация, трансформация, трансдукция, слияние протопластов.

Механизмы рекомбинаций

I. Конъюгация – перенос генетической информации при непосредственном контакте донора и реципиента. Это аналог полового процесса у бактерий. Пол у бактерий определяет F-плазида: в «мужских» клетках (F^+) она есть, в «женских» (F) — отсутствует.

Отличия F^+ и F⁻ клеток:

- у F^+ клеток есть дополнительная генетическая информация (F-фактор);
- F^+ клетки имеют на поверхности специальные f-пили, обеспечивающие контакт клеток при конъюгации;
- F^+ , клетки имеют дополнительный fi-антиген (белок f-пилей);
- F^+ и F⁻ клетки отличаются поверхностным зарядом;
- F^+ клетки чувствительны к «мужским» фагам, которые не адсорбируются на F⁻ клетках;
- F^+ клетки обладают свойствами донора (отдают генетическую информацию), а F⁻ клетки – свойствами реципиента (воспринимают генетическую информацию). Как уже указывалось, реципиентные клетки участвуют в образовании рекомбинанта реем своим геномом, а донор передает свою генетическую информацию лишь частично. Чаще это конъюгативные плазмиды, но Hfr-штаммы передают с высокой частотой хромосомные гены при конъюгации.

II. Трансдукция – перенос генетической информации от донора к реципиенту с помощью трансдуцирующего фага. Трансдуцирующий фаг – это умеренный фаг, который при индукции лизогенной культуры захватывает соседние бактериальные гены и при инфицировании новых клеток вносит в них эти гены. При строгой специфичности локуса интеграции умеренного фага с хромосомой лизогенной клетки (например, для фага α , – рядом с λ с-опероном, для фага P – рядом с trp -опероном и т. д.) при индукции захватываются и переносятся всегда строго определенные гены – это **специфическая трансдукция**. Перенос случайных бактериальных генов умеренным фагом – **общая трансдукция**. Захват случайных бактериальных генов может происходить при сборке фагов или в том случае, когда профаг не имеет строго определенного локуса в геноме бактерий.

Как Вы знаете, изменение свойств бактерий, инфицированных умеренным фагом, может происходить и под действием генов самого фага – явление фаговой, или лизогенной конверсии.

Отличия трансдукции от фаговой конверсии:

- приобретение новых свойств при трансдукции идет за счет бактериальных генов, а при фаговой конверсии – за счет фагов;
- частота трансдукции значительно ниже частоты фаговой конверсии.

III. Трансформация – передача генетической информации при культивировании реципиента на среде с ДНК донора.

Трансформация возможна у близкородственных бактерий. Реципиент получает не всю молекулу ДНК донора, а ее отдельные фрагменты. **Реципиентные клетки должны быть в состоянии компетентности**. У клетки, готовой воспринять генетическую информацию, обнаруживается особый белок – фактор компетентности. Его действие связывают:

- с повышением проницаемости клеточной стенки и ЦПМ для ДНК;
- с ингибированием ДНК-аз;



- с активированием синтетаз и рестриктаз.

Это состояние наблюдается в процессе деления клетки. Когда она активно строит свою ДНК, то в этот момент могут быть захвачены фрагменты чужой ДНК. In vivo в популяции часть клеток всегда активно размножается, а часть погибает, то есть имеются условия для трансформации. In vitro эти условия создают искусственно.

**САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ
НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ**

1. Опыт «Конъюгация 1»: передача хромосомного признака ферментации лактозы (Lac+) у E. coli.

Донор: E. Coli Hfr C Lac+ Sm^s

Реципиент: E. Coli K 12 F⁻ Lac⁻ Sm^r

Рекомбинант: ? (назовите его и укажите генетическую характеристику по указанным маркерам).

Условные обозначения: – Sm - стрептомицин; S - чувствительный; г - хромосомный признак резистентности к антибиотику.

К 5 мл суточной бульонной культуры реципиента добавьте 0,5 мл суточной бульонной культуры донора (густота 5×10^8 м.т./мл). Смесь поместите в термостат на 30-60 минут, после чего сделайте высев 0,1 мл на селективную среду Эндо со стрептомицином.

Контроли:

1) посев донора и реципиента на среду Эндо;

2) посев донора и реципиента на среду Эндо со стрептомицином. Через 18-24 часа просмотры посева.

Контроли:

1) на среде Эндо донор дает окрашенные в красный цвет колонии за счет расщепления лактозы среды Эндо (меняется pH, меняется цвет индикатора), реципиент дает бесцветные колонии, так как не расщепляет лактозы;

2) на среде Эндо со стрептомицином донор не растет, так как погибает под действием антибиотика, а реципиент, устойчивый к действию антибиотика, растет и дает бесцветные колонии.

В опыте из конъюгационной смеси на среде Эндо со стрептомицином вырастают колонии реципиента и рекомбинанта.

Как их отличить?

Подсчитайте число колоний рекомбинанта и рассчитайте частоту передачи признака ферментации лактозы по формуле:

$$K = \frac{n}{d}$$

где: K - частота передачи признака;

n - число колоний рекомбинанта;

d - число клеток донора в конъюгационной смеси.

Зарисуйте схему опыта. Учтите результаты.

2. Опыт «Конъюгация 2»: передача плазмидного признака резистентности к тетрациклину (R Tc).

Донор: E.coli M 17 Lac+ Sm^s (R Tc).

Реципиент: S.flexneri⁻ Lac⁻ Sm^r Tc^s

Рекомбинант: ? (назовите его и укажите генетическую характеристику по указанным маркерам).



К 5 мл суточной бульонной культуры реципиента добавьте 0,5 мл суточной бульонной культуры донора (густота 5×10^8 м.т./мл). Смесь поместите в термостат на 30-40 минут, после чего сделайте высев 0,1 мл на селективную среду Эндо со стрептомицином и тетрациклином.

Контроли:

- 1) посев донора и реципиента на среду Эндо со стрептомицином;
- 2) посев донора и реципиента на среду Эндо с тетрациклином;
- 3) посев донора и реципиента на среду Эндо со стрептомицином и тетрациклином.

Произведите учет результатов через 18-24 часа. Зарисуйте результаты эксперимента. Чьи колонии выросли из конъюгационной смеси на среде Эндо+Тс+Sm? Рассчитайте частоту передачи признака тетрациклино- резистентности по выше приведенной формуле (см. задание к опыту № 1).

3. Опыт по трансдукции: передача триптофанового признака (trp^+) у сальмонелл трансдуцирующим фагом Р 22.

Донор: *S. typhimurium* trp^+ (лизогенный штамм по фагу Р 22)

Реципиент: *S. typhimurium* trp^-

Трансдуцирующий фаг: Р 22

Рекомбинант: ? (назовите)

Пояснение: штамм донора является прототрофом по триптофану, т. е. сам синтезирует эту аминокислоту, имея в составе генома гены trp^+ , кодирующие этот синтез. Геном этих бактерий также содержит профаг фага Р 22.

Его локус в хромосоме клетки рядом с trp^+ -генами. При индуцировании лизогенных клеток (УФ) фаг выходит из интегрированного состояния, захватывая trp -гены. При инфицировании новых клеток вирион фага передает эти гены, осуществляя специфическую трансдукцию. В качестве реципиента взят ауксотрофный по триптофану штамм, который не способен синтезировать этой аминокислоты и нуждается в ее присутствии в питательной среде для своего роста.

При постановке опыта лизогенный штамм донора обрабатывают УФ лучами, центрифугируют со скоростью 10^3 об./мин в течение 30 минут. Надосадочную жидкость (содержащую индуцированный трансдуцирующий фаг) используют в дальнейшей работе. Центрифугат не содержит клетки донора.

К 3 мл суточной бульонной культуры реципиента (густота 5×10^8 м.т./мл) добавьте 1 мл полученного центрифугата. Смесь помещают в термостат на 30-60 минут, после чего делают высев 0,1 мл на минимальную среду, не содержащую триптофана.

Контроли:


- 1) посев донора на минимальную среду;
- 2) посев реципиента на минимальную среду;
- 3) посев реципиента на среду с триптофаном;
- 4) посев центрифугата на минимальную среду;
- 5) посев центрифугата на среду с триптофаном.

Все посева помещают в термостат. Учет результатов через 18-24 часа. Зарисуйте результаты эксперимента. Чьи колонии выросли на минимальной среде из трансдуцирующей смеси в опыте? Почему? Рассчитайте частоту трансдукции триптофанового признака по известной Вам формуле.

4. Опыт по трансформации: передача капсульного признака ($caps^+$).

Донор: изолированная ДНК штамма *K. pneumoniae* ($caps^+$)

Реципиент: штамм *E. coli* $caps^-$

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 129 -</p>
--	---	---	----------------

Рекомбинант: ? (назовите и укажите генетическую характеристику по указанному признаку)

В опыте произведен посев штамма реципиента на среду Эндо с добавлением ДНК донора.
Контроли:

- 1) посев штамма донора на среду Эндо;
- 2) посев штамма реципиента на среду Эндо.

Посевы помещены в термостат на 24 часа. Учтите результаты. Обратите внимание, что колонии донорского штамма на Эндо лактозопозитивны (красного цвета), слизистой консистенции, а колонии реципиента лактозопозитивны, обычной мягкой консистенции. Оцените характер роста на среде Эндо с добавлением ДНК донора. Найдите колонии рекомбинанта. Как они выглядят? Зарисуйте схему постановки опыта. Опишите колонии донора, реципиента и рекомбинанта. Промикроскопируйте готовые мазки из колоний донора, реципиента, рекомбинанта, окрашенные по методу Бурри-Гинса на выявление капсулы. Зарисуйте результаты.

5. Опыт по определению колициногенности.


Пояснение: колицины – вещества, продуцируемые бактериями, губительно действующие на близкородственные бактерии (штаммы того же вида). Образование колицинов (колициногенность) детерминировано генами Co1-плазмид. По способности продуцировать колицины бактерии внутри вида делятся на колициногеновары, а по чувствительности к действию стандартных колицинов — на колициновары.

Опыт ставят с целью определения наличия Co1-плазмиды в изучаемой культуре кишечной палочки. В качестве индикаторного штамма используют штамм *E. coli* ф, чувствительный к колицинам E. Для этого берут пробирки со скошенным агаром, у которого отрезана верхняя часть. Исследуемую культуру засевают уколом внутрь среза агара и помещают в термостат на 24 часа. Через сутки на поверхность скошенного агара методом штриха засевают индикаторную культуру. Посевы вновь помещают в термостат. Через 24 часа учитывают результаты. Этот метод выявления бактериоцинов (колицинов) получил название метода отсроченного антагонизма. Если изучаемая культура имеет Co1-плазмиду, то продуцируемые клетками колицины диффундируют в среду и тормозят рост индикаторной культуры; если образование колицинов не происходит (нет Co1-плазмид), то индикаторная культура хорошо растет на поверхности скошенного агара.

Учтите результаты опыта, зарисуйте. Сделайте заключение о наличии или отсутствии Co1-плазмид, если: а) отсутствует рост индикаторной культуры; б) индикаторная культура растет в эксперименте.

6. Диагностика фенилкетонурии.

Пояснение: достижения генетики бактерий широко используют в биологии, биотехнологии и медицине. Одним из примеров этого может служить диагностика фенилкетонурии с использованием штаммов кишечной палочки, ауксотрофных по фенилпировиноградной кислоте (не растут в ее отсутствие). Фенилкетонурия — наследственное заболевание, связанное с генетически обусловленным нарушением обмена ароматических аминокислот (превращения фенилаланина в тирозин). У таких больных в моче появляется фенилпировиноградная кислота, чего не бывает у здоровых лиц. Для ее обнаружения можно использовать ауксотрофный штамм *E. coli* по фенилпировиноградной кислоте. Этот штамм засевают на чашку с минимальной средой в виде газона. В среде прорезают лунки, в которые вносят образцы исследуемой мочи. Контролями служат лунки с раствором фенилпировиноградной кислоты и образцом мочи здорового человека. Посев помещают в термостат и через сутки учитывают результаты. Если в исследуемом образце

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 130 -</p>
--	---	---	----------------

мочи содержалась фенилпировиноградная кислота, то вокруг этой лунки наблюдается зона роста кишечной палочки, сравнимая с ростом вокруг контрольной лунки с раствором фенилпировиноградной кислоты. Вокруг лунки с образцом мочи здорового человека рост всегда отсутствует.

Учтите и зарисуйте результаты. Укажите, в каких образцах найдена фенилпировиноградная кислота. О чем это свидетельствует? Сравните результаты, сделайте вывод.



ИНФЕКЦИЯ

Тема: «Учение об инфекции. Патогенетические факторы бактерии. Биологический метод исследования»

Цель:

- научиться методам определения некоторых токсинов и ферментов патогенности бактерий;
- усвоить этапы биологического метода исследования.

Задачи:

- уметь оценить результаты изучения патогенетических факторов микроорганизмов;
- овладеть методикой заражения, вскрытия и бактериологического исследования лабораторных животных.

Инфекционный процесс – это совокупность физиологических и патологических процессов, возникающих в организме при внедрении в него патогенных микробов. Крайней степенью этого взаимодействия является инфекционная болезнь.


Патогенность – это генетически обусловленная способность микроорганизма вызывать инфекционный процесс.

Вирулентность – это степень патогенности, фенотипическое выражение патогенного генотипа. Вирулентность является количественной характеристикой патогенности и измеряется условно принятыми единицами: **минимальная летальная доза** – количество микробов, которое вызывает гибель 95% животных, взятых в опыт (DLM).

DL₅₀ – летальная доза, вызывающая гибель 50% подопытных животных.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ

Последовательность действий (этапы)	Способы действия (ориентиры)
I. Изучение факторов вирулентности	1. Изучить посевы стафилококков на кровяном агаре, объяснить причину образования зон гемолиза вокруг колоний. 2. Ознакомиться с определением «минимальная смертельная доза» экзотоксина по готовым результатам; протокол записать в тетрадь. 3. Определение плазмокоагулазы: культуру стафилококка засеять в пробирку с цитратной плазмой кролика, в контроль вместо плазмы внести физраствор. Поставить в термостат на 2 часа. В тетради описать ход опыта, учесть результаты и сделать вывод.
II. Заражение экспериментальных животных	Ввести физиологический раствор внутримышечно и внутрибрюшинно белой мыши.
III. Вскрытие трупа зараженного животного	Произвести вскрытие трупа белой мыши, накануне зараженной культурой бактерий. Сделать посев органов и крови на чашку с МПА, поставить в термостат, приготовить мазки. Мазки из органов и крови окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать; определить, к какому семейству относятся микроорганизмы; сделать предва-

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 132 -</p>
--	---	---	----------------

	<p>рительный вывод о причине гибели мыши. Протокол вскрытия трупа животного и бактериологическое исследование записать в тетрадь.</p>
<p>IV. Сдать работу преподавателю</p>	

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

Определение понятий «инфекция» и «инфекционный процесс». Формы симбиоза микроба и макроорганизма. Условия, от которых зависит возникновение, течение и исход инфекционного процесса. Что такое патогенность микроба? Вирулентность микробов, единицы ее измерения. Какая разница между понятиями патогенность и вирулентность микробов? Какой микроб более вирулентен: с DLM 1 млрд. микробных тел или с DLM 250 млн. микробных тел? Каким образом можно понизить вирулентность микробов? Повысить вирулентность микробов? Начертите и заполните схему «Основные факторы вирулентности микробов». Почему капсула микробов является фактором вирулентности? Как можно обнаружить у микробов наличие факторов вирулентности: капсулы, гемолизины, ДНК-азы, плазмокоагулазы? Экзотоксины и эндотоксины: образование, получение, химическая природа, сила действия, избирательность действия, антигенность. Анатоксин, его получение и основные свойства. Перечислить токсигенные бактерии. Пирогены бактериального происхождения, их характеристика, применение в медицине. В каких препаратах присутствие пирогенов является нежелательным? Как определяется пирогенность воды и растворов? Влияние состояния макроорганизма и условий внешней среды на течение инфекционного процесса. Возможные исходы заражения. Формы инфекционного процесса в зависимости от наличия клинических проявлений. Что такое рецидив, реинфекция, суперинфекция, вторичная инфекция? Понятие о бактериемии, септицемии, септикопиемии, токсинемии. Если ввести кровь больного ботулизмом в организм мыши, то она заболевает и погибает. Чем вызывается гибель мыши? Как называется состояние организма, которое возникает у мыши? В каких целях используется экспериментальный метод исследования? Какие животные чаще всего используются для экспериментов в микробиологических лабораториях? Правила отбора и подготовки животных для экспериментального заражения. Какие меры предосторожности следует соблюдать при заражении животных? Методы заражения животных. В каких случаях предпочитается кожное или внутрикожное введение биологического препарата человеку и в каких – подкожное введение? Какова цель бактериологического исследования трупа экспериментального животного? Какие условия соблюдаются при бактериологическом исследовании трупа? Почему исследуемый материал не должен соприкасаться с дезинфицирующими веществами?

Тема: «Антимикробная терапия»


Цель:

- изучить роль антибиотиков в этиотропной терапии инфекционных заболеваний.

Знать:

- принципы рациональной антибиотикотерапии, ее осложнения и методы преодоления лекарственной устойчивости бактерий, механизмы лекарственной устойчивости.

Уметь:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 133 -</p>
--	---	---	----------------

– учесть результаты определения чувствительности бактерий к антибиотикам методом стандартных индикаторных дисков.

Химиотерапия – это лечение инфекционных и опухолевых заболеваний химическими препаратами, не являющимися продуктами реакции организма на возбудителя.

Препараты, используемые для химиотерапии, называются химиотерапевтическими. Нередко в клинической практике понятия «химиотерапия» и «антибиотикотерапия» используются как синонимы. Однако это неверно, т. к. антибиотики – только один из классов химиотерапевтических препаратов, и, следовательно, антибиотикотерапия – только один из видов химиотерапии.

В настоящее время известно несколько сотен химиотерапевтических препаратов, и постоянно ведется поиск все новых и новых веществ.

Классификация химиотерапевтических препаратов

Деление химиотерапевтических препаратов на те или иные группы достаточно условно. В основу этого деления положены разные принципы.

По **направленности действия** все химиопрепараты делятся на:

- *противопротозойные* – метронидазол (ТМ – флагил, трихопол), орнидазол (ТМ – тиберал), пентамидин (ТМ – пентам), пириметамин;
- *противовирусные* – азидотимидин, фоскарнет (ТМ – фоскавир), ганцикловир (ТМ – цитовен), амантадин, римантадин (он же ремантадин), ацикловир (ТМ – зовиракс), рибавирин (ТМ – виразол, виразид) и др.
- *противогрибковые* – полиены – амфотерицин В (ТМ – фунгилин), нистатин (ТМ – микостатин), леворин, натамицин (ТМ – пимофуцин), азолы – клотримазол (ТМ – канестен, кандид), бифоназол (ТМ – микоспор), миконазол (ТМ – монистат), итраконазол (ТМ – орунгал, споранокс), флуконазол (ТМ – дифлюкан), кетоконазол (ТМ – низорал, ороназол) и другие – флуцитозин (ТМ – анкобон), тербинафин (ТМ – ламизил), гризеофульвин (не влияет на грибы рода кандид) и др.;
- *антибактериальные*.

Среди антибактериальных препаратов в клинической практике всегда отдельно выделяются противотуберкулезные (антимикобактериальные) и противосифилитические средства, что связано с особенностями возбудителей этих заболеваний.


По **способности накапливаться** в тех или иных тканях, т. е. по фармакокинетике, клиницисты и фармакологи среди химиотерапевтических веществ выделяют цитостатики (накапливаются в опухолевых клетках и подавляют их рост), уросептики (накапливаются в моче и подавляют развитие возбудителей инфекций почек и мочевыводящих путей) и др.

По **химическому строению** выделяют несколько групп химиотерапевтических препаратов.

1. Производные мышьяка, сурьмы и висмута. Это группа химиотерапевтических веществ – производных соответствующих соединений. В настоящее время они практически не используются, хотя эта группа, по-прежнему, вполне может успешно применяться для местной терапии многих заболеваний.

Сульфаниламиды. К этой группе относятся многочисленные производные сульфаниловой кислоты.

а. Это первая группа антибактериальных химиопрепаратов. Они были открыты и используются с 30-х годов, но и к настоящему времени многие из них достаточно эффективны.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 134 -</p>
--	---	---	----------------

в. Это сульфаметоксазол (ТМ – гантанол), сульфаметизол (ТМ – руфол), сульфацетамид (более известен как альбуцид или сульфацил натрия), сульфодиметоксин – препарат пролонгированного действия и др.

с. Механизм их действия состоит в том, что они являются структурными аналогами парааминобензойной кислоты и нарушают синтез фолиевой кислоты, а через него – синтез ДНК, т. е. являются микробными антиметаболитами.

2. **Диаминопиримидины.** Препараты этой группы также являются антиметаболитами, но поскольку они подменяют пиримидиновые основания, то и спектр их действия шире, чем у сульфаниламидов.

а. К ним относятся триметоприм, пириметамин (антипротозойный препарат), тетроксоприм.

3. **Нитрофурановые препараты.** Это производные пятичленного гетероциклического соединения – фурана.

а. К ним относятся – фурацилин, фурагин, фуразолидон, нитрофурантоин (ТМ – фурадонин), нитрофуразон, солафур и др.

в. Механизм их действия состоит в одновременной блокаде нескольких ферментных систем микробной клетки.

4. **Хинолоны.** Это группа химиотерапевтических веществ, полученных на основе собственно хинолонов (препараты группы налидиксовой кислоты) – налидиксовая кислота (ТМ – нефам, невидграмон), циноксацин (ТМ – цинобак) и производных хинолонов – 4-аминохинолон (оксолиниевая кислота), 8-аминохинолон (нитроксолин – ТМ – 5-НОК) и фторхинолоны: офлоксацин (ТМ – заноцин, таривид), норфлоксацин (ТМ – норбактин), цiproфлоксацин (ТМ – цифран, ципробай, цiproлет, цифлозин, ципоксин), ломефлоксацин (ТМ – максаквин).

а. Механизм действия хинолонов состоит в нарушении различных этапов (репликации, дубликации, транскрипции, репарации) синтеза ДНК микробной клетки.

в. Несмотря на то, казалось бы универсальный механизм действия на микробную клетку, фторхинолоны не оказывают влияния на анаэробные бактерии, а налидиксовая кислота активна только в отношении грамотрицательных микроорганизмов (исключая род псевдомонад), что отражено в коммерческом названии одного из препаратов – неграм (ТМ).

5. **Азолы.** Это группа различных производных имидазола – клотримазол (ТМ – канестен, кандид), миконазол (ТМ – монистат), кетоконазол (ТМ – низорал, ороназол), эконазол (ТМ – экостатин) и других азолов, к которым относятся: бифомазол (ТМ – микоспор), итраконазол (ТМ – орунгал, споранокс), флуконазол (ТМ – дифлюкан).

а. Все препараты этой группы обладают противогрибковой активностью.


6. **Антибиотики** – это группа соединений природного происхождения или их полусинтетических и синтетических аналогов, обладающих антимикробным или противоопухолевым действием.

К настоящему времени известно несколько сот подобных веществ, но лишь немногие из них нашли применение в медицине.

В основу **классификации антибиотиков** также положено несколько разных принципов.

По **способу получения** их делят на природные, синтетические и полусинтетические.

Продуцентами большинства антибиотиков являются актиномицеты, плесневые грибы, но их можно получить и из бактерий (полимиксины), высших растений (фитонциды) и даже тканей животных и рыб (эритрин, эктерицид).

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 135 -</p>
--	---	---	----------------

По **направленности действия** – на антибактериальные, противогрибковые, противоопухолевые.

По **спектру действия** (числу видов микроорганизмов, на которые действуют антибиотики) они делятся на широкоспекторные (цефалоспорины 3-го поколения, макролиды) и препараты узкого спектра действия (цикloserин, линкомицин, бензилпенициллин, клиндамицин).

По **химическому строению** антибиотики делятся на:

1. β(бета)-лактамы антибиотики. Основу их молекулы составляет бета-лактамное кольцо. К ним относятся пенициллины, цефалоспорины, монобактамы и карбапенемы.

a. **Пенициллины** – это группа природных и полусинтетических антибиотиков, молекула которых содержит 6-аминопенициллановую кислоту, состоящую из двух колец – тиазолидинового и β(бета)-лактамного.

b. **Цефалоспорины** – это природные и полусинтетические антибиотики, полученные на основе 7-аминоцефалоспориновой кислоты и содержащие цефемовое (также бета-лактамное) кольцо, т. е. по структуре они близки к пенициллинам.

c. **Монобактамы** – азтреонам (ТМ – азакам, примбактам, небактам, динабиотик).

d. **Карбапенемы** – меропенем (ТМ – меронем) и имипинем, причем имипинем применяют только в комбинации со специфическим ингибитором почечной дегидропептидазы – циластатином – имипинем/циластатин (ТМ – тиенам, зиенам).

2. Аминогликозиды. Они содержат аминсахара, соединенные гликозидной связью с остальной частью (агликоновым фрагментом) молекулы.

К ним относятся: стрептомицин, гентамицин (ТМ – гарамицин, цидомицин, рефобацин), канамицин, неомицин, мономицин, сисомицин, тобрамицин (ТМ – небцин, тобра, обрацин) и полусинтетические аминогликозиды – спектиномицин, амикацин (ТМ – биклин, амикин), нетилмицин (ТМ – нетиллин, нетромицин).

3. Тетрациклины. Основу молекулы составляет полифункциональное гидронафтаценовое соединение с родовым названием тетрациклин.

4. Макролиды – препараты этой группы содержат в своей молекуле макроциклическое лактоновое кольцо, связанное с одним или несколькими углеводными остатками.

К этим препаратам относятся: эритромицин, олеандомицин, рокситромицин (ТМ – рурид, рокситем), азитромицин (ТМ – сумамед, сунамед), кларитромицин (ТМ – клацид), диритромицин, джосамицин, спирамицин.

5. Линкозамиды (в некоторых источниках – линкозамины).

Это линкомицин и клиндамицин (ТМ – далацин Ц).

Фармакологические и биологические свойства этих антибиотиков очень близки к макролидам, и, хотя в химическом отношении это совершенно иные препараты, некоторые медицинские источники и фармацевтические фирмы-производители химиопрепаратов, например, далацин С, относят линкозамиды к группе макролидов.


6. Гликопептиды. Препараты этой группы в своей молекуле содержат замененные пептидные соединения (пинкомицин (ТМ – ванкацин, диатрацин), тейкопланин (ТМ – таргоцид), даптомицин).

7. Полипептиды. Препараты этой группы в своей молекуле содержат остатки полипептидных соединений. (грамидин, полимиксины М и В, бацитрацин, колистин).

8. Полиены – препараты этой группы в своей молекуле содержат несколько сопряженных двойных связей (амфотерицин В, нистатин, леворин, натамицин).

9. Антрациклиновые антибиотики.

К ним относятся противоопухолевые антибиотики – доксорубин, карминомицин, рубомицин, акларубинин.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 136 -</p>
--	---	---	----------------

Есть еще несколько достаточно широко используемых в настоящее время в практике антибиотиков, не относящихся ни к одной из перечисленных групп – фосфомицин (ТМ – фосфоцин), фузидиевая кислота (ТМ – фузидин), рифампин (ТМ – рифампицин, римактан).

Механизмы антимикробного действия

В основе антимикробного действия антибиотиков, как и других химиотерапевтических средств, лежит нарушение метаболизма микробных клеток.

По механизму антимикробного действия антибиотики можно разделить на несколько групп.

1. Ингибиторы синтеза клеточной стенки (муреина). Это бета-лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины), монобактамы и карбапенемы, ванкомицин. Поскольку пептидогликана нет в стенках животных клеток, то эти антибиотики обладают очень низкой токсичностью для макроорганизма, и их можно применять в высоких дозах (мегатерапия).

2. Вызывающие повреждение цитоплазматической мембраны. Эти повреждения могут быть самыми различными – блокирование фосфолипидных или белковых компонентов, нарушение проницаемости клеточных мембран, изменение мембранного потенциала и т. д.

К таким антибиотикам относятся полиеновые и полипептидные антибиотики.

При этом полиеновые антибиотики обладают ярко выраженной противогрибковой активностью, изменяя проницаемость клеточной мембраны путем взаимодействия (блокирования) со стероидными компонентами, входящими в ее состав именно у грибов, а не бактерий.

3. Подавляющие белковый синтез. Нарушение синтеза белка может происходить на всех уровнях, начиная с процесса считывания информации с ДНК и кончая взаимодействием с рибосомами – блокирование связывания транспортной т-РНК с 30S субъединицами рибосом (аминогликозиды), с 50S субъединицами рибосом (макролиды) или с информационной и-РНК (на 30S субъединице рибосом – тетрациклины).

Эта группа антибиотиков – самая многочисленная, в нее входят аминогликозиды, макролиды, тетрациклины и хлорамфеникол (левомицетин), нарушающий синтез белка микробной клеткой на стадии переноса аминокислот на рибосомы.

4. Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот. Эти антибиотики обладают не только антимикробной, но и цитостатической активностью, и поэтому используются как противоопухолевые средства.

Один из антибиотиков, относящихся к этой группе, – рифампицин, ингибирует ДНК-зависимую РНК-полимеразу, и тем самым блокирует синтез белка на уровне транскрипции.


Основные осложнения при химиотерапии

Все основные осложнения при химиотерапии можно разделить на 2 группы – осложнения со стороны макроорганизма и осложнения со стороны микроорганизмов.

Осложнения со стороны макроорганизма:

1. аллергические реакции;
2. прямое токсическое (органотоксическое) действие химиопрепаратов;
3. побочные токсические (органотропные) эффекты.

Эти осложнения связаны не с прямым, а опосредованным действием биопрепаратов на различные системы макроорганизма. Нитрофурановый препарат фурагин, например, проникая через плаценту, может вызвать гемолитическую анемию плода из-за незрелости его ферментных систем.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 137 -</p>
--	---	---	----------------

Хлорамфеникол (левомицетин) может подавлять синтез белков не только в микробной клетке, но и в клетках костного мозга, вызывая у части больных состояние стойкой лейкопении.

Антибиотики, действующие на синтез белка и нуклеиновый обмен, всегда изменяют иммунную систему человека.

4. реакции обострения;

5. развитие дисбиоза (дисбактериоза) – нарушения качественного и количественного состава нормальной микрофлоры – также одно из частых осложнений химиотерапии. Оно чаще возникает на фоне использования антибиотиков широкого спектра действия.

Одним из наиболее тяжелых клинических проявлений дисбиоза является кандидоз полости рта, гениталий или кишечника.

Осложнение химиотерапии со стороны микроорганизмов **проявляется развитием лекарственной устойчивости.** В основе развития лекарственной устойчивости к антибиотикам и другим химиотерапевтическим препаратам лежат мутации хромосомных генов или приобретение плазмид лекарственной устойчивости.

Прежде всего, необходимо отметить, что существуют микроорганизмы, природно-устойчивые к отдельным антибиотикам; в их геноме есть гены, контролирующие этот признак. Для рода ацинетобактер, например, устойчивость к пенициллину является таксономическим признаком. Полирезистентны к антибиотикам и многие представители псевдомонад, неклостридиальных анаэробов и другие микроорганизмы. Такие бактерии являются природными банками (хранилищами) генов лекарственной устойчивости.

Как известно, мутации, в том числе и по признаку лекарственной устойчивости, спонтанны и возникают всегда. В период массового применения антибиотиков в медицине, ветеринарии и растениеводстве микроорганизмы практически живут в среде, содержащей антибиотики, которые становятся селективным фактором, способствующим отбору устойчивых мутантов, получающим определенные преимущества.


Плазмидная устойчивость приобретается микробными клетками в результате процессов генетического обмена. Сравнительно высокая частота передачи R-плазмид обеспечивает широкое и достаточно быстрое распространение устойчивых бактерий в популяции, а селективное давление антибиотиков (о чем говорилось выше) – отбор и закрепление их в биоценозах. Плазмидная устойчивость может быть множественной, т. е. к нескольким лекарственным препаратам, и при этом достигать достаточно высокого уровня.

Биохимическую основу резистентности обеспечивают разные механизмы.

Энзиматическая инактивация антибиотиков. Этот процесс осуществляется с помощью синтезируемых бактериями ферментов, разрушающих активную часть антибиотиков. Одним из таких широко известных ферментов является β -лактамаза, обеспечивающая устойчивость микроорганизмов к бета-лактамам антибиотикам за счет прямого расщепления β -лактамного кольца этих препаратов. Другие ферменты способны не расщеплять, а модифицировать активную часть молекулы антибиотиков, как это имеет место при энзиматической инактивации аминогликозидов и левомицетина.

Изменение проницаемости клеточной стенки для антибиотика или подавление его транспорта в бактериальные клетки. Этот механизм лежит в основе устойчивости к тетрациклину.

Изменение структуры компонентов микробной клетки. Например, изменение структуры бактериальных рибосом сопровождается повышением устойчивости к аминогликозидам и макролидам, а изменение структуры РНК-синтетаз – к рифампицину. У бактерий одного и того же вида могут реализовываться несколько механизмов

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 138 -</p>
--	---	---	----------------

резистентности. В то же время развитие того или другою типа резистентности определяется не только свойствами бактерий, но и химической структурой антибиотика.

Принципы рациональной химиотерапии, к сожалению, очень часто не соблюдаются, хотя достаточно просты и состоят в следующем.

Химиотерапия должна **назначаться строго по показаниям**, т. е. только в тех случаях, когда без нее нельзя обойтись, с учетом противопоказаний, например, повышенной чувствительности или аллергической реакции к препаратам той или иной группы.

Выбор препарата для химиотерапии может проводиться в различных вариантах возникающих ситуаций. При этиологически расшифрованных заболеваниях выбор препарата должен определяться с учетом чувствительности возбудителя (антибиотикограмма), выделенного от данного конкретного больного в результате бактериологического исследования.

При выделении возбудителя, но без определения его чувствительности к химиотерапевтическим препаратам, или при эмпирической инициальной химиотерапии заболевания с неидентифицированным, но предполагаемым возбудителем, выбор препарата для химиотерапии должен основываться на показателях антибиотикочувствительности соответствующих микроорганизмов.

При выборе препарата необходимо учитывать данные его фармакокинетики.

Одним из важнейших принципов рациональной антибиотикотерапии является назначение их с учетом чувствительности возбудителя. Существуют **2 метода определения чувствительности бактерий к антибиотикам**:

- **качественный – метод стандартных индикаторных дисков** – он позволяет охарактеризовать культуру бактерий, выделенную от больного, как устойчивую, умеренно устойчивую, умеренно чувствительную, чувствительную или высоко чувствительную к тому или иному антибиотику. Для этого из суточной чистой культуры со скошенного агара готовят бактериальную взвесь густотой 5×10^8 м.т./мл и засевают 1 мл, нанося на всю поверхность специальной твердой питательной среды АГВ, разлитой в чашки Петри. Посев подсушивают 20-30 минут и накладывают на него стандартные маркированные бумажные диски, содержащие определенную концентрацию того или иного антибиотика. Диски накладывают на расстоянии не менее 10 мм от края чашки и 20 мм друг от друга. Посевы инкубируют в термостате. Через 24 часа измеряют диаметр зон задержки роста вокруг дисков. В зависимости от его величины (d в мм) культуру относят к той или иной группе чувствительности. Антибиотики, к которым данный штамм бактерий оказался высоко чувствительным, и рекомендуются для лечения.

- **количественный – метод серийных разведений** – он позволяет количественно оценить уровень чувствительности изучаемой культуры бактерий, т. е. определить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) данного антибиотика для данного штамма. Если МИК высока, то бактерии устойчивы к антибиотику, и его нельзя использовать для лечения. Принцип определения чувствительности бактерий к антибиотикам методом серийных разведений состоит в следующем. В ряд пробирок разливают МПБ в объеме 1 мл, а в первую – 1,9 мл. В отдельной пробирке готовят матричный раствор антибиотика с высокой концентрацией. Из нее в первую пробирку вносят 0,1 мл, тщательно перемешивают и переносят 1 мл в следующую пробирку. Содержимое этой пробирки также тщательно встряхивают и переносят 1 мл из нее в следующую и т. д. Из последней пробирки ряда по окончании приготовления разведения 1 мл выливают. Затем во все пробирки вносят 0,1 мл взвеси суточной культуры со скошенного агара густотой 5×10^8 м.т./мл. Контролем служит такой же посев в МПБ без антибиотика. Посевы помещают в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Через сутки просматривают посевы и



отмечают наименьшую концентрацию антибиотика, которая вызывает задержку роста. Это и есть минимальная ингибирующая концентрация (МИК). При учете опытные пробирки сравнивают с контролем, где в отсутствие антибиотика бактерии беспрепятственно размножаются, вызывая помутнение бульона.

При постановке опыта на плотной среде по 20 мл расплавленного МПА разливают в несколько флаконов и в каждый флакон добавляют определенные количества антибиотика, тщательно перемешивают и разливают по чашкам Петри. Таким образом, получают ряд чашек с разной концентрацией одного и того же антибиотика в питательной среде. После застывания среды производят посев испытуемых культур мерной петлей. Посевы помещают в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Через сутки просматривают посевы и определяют наименьшую концентрацию антибиотика, задерживающую рост бактерий. Преимущество метода серийных разведений в твердой питательной среде состоит в том, что он позволяет на одной чашке определить чувствительность нескольких десятков культур. Неудобство метода серийных разведений – в использовании большого количества лабораторной посуды и большом расходе питательных сред при исследовании действия нескольких антибиотиков. При сравнении действия разных антибиотиков на один и тот же штамм бактерий для лечения назначают тот антибиотик, чья МИК – самая низкая.

**САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТА
НА ПРАКТИЧЕСКОМ ЗАНЯТИИ**

1. Определите чувствительность к антибиотикам штаммов *E. coli* и *S. aureus* методом стандартных индикаторных дисков.
2. Учтите результаты определения чувствительности к антибиотикам методом стандартных индикаторных дисков, пользуясь табличными данными. Результаты оформите в виде таблицы.
3. Сравните полученные результаты, сделайте выводы.
4. Учтите результаты определения чувствительности к антибиотикам штаммов *E. coli* и *S. aureus* методом серийных разведений в жидкой питательной среде. Результаты оформите в виде таблицы.

**Определение чувствительности бактерий к антибиотикам
методом стандартных индикаторных дисков**

Культура	E.coli		S. aureus	
	d (мм) зон задержки роста	Степень чувствительности	d (мм) зон задержки роста	Степень чувствительности
Эритромицин				
Тетрациклин				
Левомецетин				
Пенициллин				
Стрептомицин				

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 140 -</p>
--	---	---	----------------

Тема: Вакцинация и её иммунологические основы

Цель: изучить роль вакцин в профилактике инфекционных заболеваний.

Знать: принципы вакцинопрофилактики, ее осложнения и методы преодоления.

Уметь: оценить и применить вакцины и её результаты.

Вакцинация – целенаправленное введение в организм человека заданного антигена в неагрессивной форме и в неагрессивных, но иммуногенных дозах с целью индукции защитного иммунного ответа и формирования иммунологической памяти для профилактики реального инфекционного заболевания в будущем.

Целью иммунизации является формирование специфического иммунитета к инфекционному заболеванию посредством искусственного создания инфекционного процесса, который в большинстве случаев протекает бессимптомно (то есть без проявлений) или в легкой форме. В то же время для многих инфекционных болезней характерно тяжелое течение. Несмотря на большие возможности современной медицины, они могут давать серьезные осложнения с длительными, стойкими последствиями. Кроме того, болезнь лишает человека трудоспособности, а ребенка — возможности посещать школу или детский сад.

Силу и продолжительность иммунного ответа определяет главная система гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex - МНС), которая располагается в хромосоме 6 и носит название «HLA-система».

В ответ на вакцинацию в организме возникает цепочка иммунологических реакций. В этом процессе выделяют три периода (рис.1).

Первый период (латентный, или «лаг-фаза») продолжается с момента введения вакцины до появления первых антител в крови. В это время специальные клетки — макрофаги — захватывают возбудителя, его части или токсины (то есть антигены), расщепляют их и «представляют» на своей поверхности. Представленные таким образом антигены распознаются циркулирующими в крови клетками — Т-лимфоцитами. Т-лимфоциты, в свою очередь, активируют В-лимфоциты, которые превращаются в плазматические клетки. Последние вырабатывают специфические факторы защиты — антитела, основной функцией которых является связывание (нейтрализация) антигена. Некоторые В-лимфоциты живут долго и сохраняют так называемую иммунологическую память.

Длительность первого, латентного, периода варьирует от нескольких дней до 2 недель и зависит от вида вакцины, способа ее введения и особенностей иммунной системы ребенка.

Второй период характеризуется повышением концентрации специфических антител в крови. После введения некоторых вакцин специфические антитела появляются очень быстро и так же быстро повышается их содержание в крови, что позволяет использовать эти вакцинные препараты для экстренной профилактики при контакте с больными корью, полиомиелитом, эпидемическим паротитом, вирусным гепатитом А.

Второй период продолжается от 4 дней до 4 недель.


В третьем периоде после достижения максимального уровня специфических антител их количество начинает уменьшаться — вначале быстро, затем медленно. Такое уменьшение происходит в течение нескольких лет.

При повторной встрече с антигеном (при ревакцинации или инфицировании привитого ребенка) «лаг-фаза» отсутствует, так как активируются В-клетки памяти и специфический иммунный ответ возникает быстрее и отличается большей интенсивностью.

Иммунологические особенности ребёнка

Способность к синтезу иммуноглобулинов и реакциям клеточного иммунитета формируется на ранних этапах развития плода.

Нормальный новорождённый имеет качественно полноценную иммунную систему,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 141 -</p>
--	---	---	----------------

однако у него отсутствует иммунологическая память (антигенный опыт).

В период новорожденности прекрасно развивается клеточный иммунитет в ответ на иммунизацию (успешная вакцинация БЦЖ).

Грудной младенец способен вырабатывать Ig – М – антитела, а способность к IgG – ответу формируется в первые жизни (а этом периоде – материнские IgG).

Плацентарный перенос IgG легко происходит в последнем триместре беременности. В крови доношенного новорожденного содержание IgG такое же или даже выше, чем в крови матери.

Разные типы антител переносятся с разной интенсивностью через плаценту IgG находящиеся у матери в больших концентрациях переносятся через плаценту хорошо (противокраснушные, противокоревые). IgG содержащиеся у матери в низких концентрациях передаются плохо (противокклюшные).

IgG, содержащиеся у матери в низких концентрациях передаются плохо (противокклюшные).

IgM – антитела к линозольсахаридам грамм – отрицательных бактерий вообще не происходит через плаценту.

Благодаря материнским антителам новорожденный не восприимчив к дифтерии, краснухе и кори, которые не встречаются у младенцев до 3 месяцев и исключительно редки до 6 месяцев жизни.

Однако эти пассивно полученные IgG – антитела могут препятствовать синтезу антител после иммунизации живыми вирусными вакцинами. При этом IgG антитела нейтрализуют вакцинный вирус, вследствие чего не происходит вирусной репликации, необходимой для создания иммунитета после введения вакцины. Поэтому иммунизация такими вакцинами проводится не ранее чем в возрасте 12 месяцев, так как к этому времени пассивно полученные антитела выводятся из организма.

В ряде стран мира коревую вакцину вводят с 6 – месячного возраста, чтобы защитить наиболее уязвимую группу детей. При этом иммунитет вырабатывается лишь у 40 – 60% детей, в связи, с чем вакцинацию приходится проводить повторно на втором году жизни.

Практический опыт показывает, что эффективность первичной иммунизации убитными вакцинами не снижается из-за наличия материнских антител. Поэтому начинать вакцинацию АКДС можно в возрасте 6 – 8 недель, что и практикуется в ряде стран мира.

Так как живая полиомиелитная вакцина даётся перорально – она не ингибируется IgG – антителами крови и поэтому может применяться у детей 2 –3 мес. жизни.


Грудные младенцы получают материнские антитела с молоком матери (секреторные IgA). Эти антитела практически не поступают в кровь, но могут создавать местный иммунитет ко многим возбудителям в ЖКТ.

Виды вакцин

В России производится около 40 видов вакцин. В зависимости от состояния иммуногена выделяют различные виды вакцин:

Живые вакцины

Живые вакцины готовятся из апатогенных возбудителей, ослабленных (аттенуированных) в искусственных или естественных условиях. Вакцинные штаммы утрачивают свои патогенные свойства и теряют способность вызывать у человека инфекционное заболевание, но сохраняют способность размножаться в месте введения, а в дальнейшем в лимфатических узлах и внутренних органах. Инфекция, искусственно вызванная введением вакцины, продолжается в течение определенного времени, не сопровождается клинической картиной заболевания и стимулирует образование иммунитета к патогенным

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 142 -</p>
--	---	---	----------------

штаммам микроорганизмов. В единичных случаях могут возникнуть заболевания, вызванные непосредственно введением вакцины. Иногда причиной является ослабленный иммунитет прививаемого, иногда — остаточная вирулентность вакцинного штамма. Живые вакцины создают более длительный и прочный иммунитет, чем инактивированные и химические вакцины. Иногда для создания такого прочного иммунитета достаточно однократного введения вакцины. Однако, именно в связи с тем, что вакцины изготовлены на основе живых микроорганизмов, следует соблюдать ряд требований для сохранения вакцин.

Требования, обеспечивающие сохранение жизнеспособности микроорганизмов:

- живые вакцины следует хранить и транспортировать при температуре 4-8 °С;
- замораживание живых вакцин не оказывает существенного влияния на их активность;
- живые вакцины быстро утрачивают иммуногенные свойства в результате нагревания и иногда при комнатной температуре;
- потеря вакуума (нарушение целостности ампул) может привести к гибели препарата, вызванной проникновением воздуха и влаги; если содержимое ампулы изменило свой внешний вид или на ампуле заметны трещины, такие ампулы следует уничтожить;
- в процессе работы с вакцинами (то есть при вскрытии ампул, растворении вакцин и обработке инструментов) обязательно нужно следить за тем, чтобы препарат не подвергался воздействию повышенной температуры и не соприкасался с дезинфицирующими веществами, которые способны инактивировать микроорганизмы. В том случае, если вакцину наносят на кожу и предварительно обрабатывают кожу эфиром или спиртом, препарат следует наносить после испарения жидкостей;
- эффективность вакцинации может быть значительно понижена вследствие применения иммуноглобулинов, сульфаниламидов и антибиотиков за несколько дней до введения вакцины и через месяц — полтора после.

Живыми являются вакцины против гриппа, кори, эпидемического паротита, полиомиелита, сибирской язвы, туберкулеза, туляремии, чумы, бруцеллеза и др.

Инактивированные (убитые) вакцины

Инактивированные (убитые) вакцины получают путем полного обезвреживания бактерий и вирусов с сохранением их иммуногенных свойств.

Различают цельноклеточные, субъединичные, рекомбинантные вакцины и сплит-вакцины.


Цельноклеточные (цельновирионные) вакцины

Цельноклеточные (цельновирионные) вакцины готовят путем лиофилизированного высушивания (при низкой температуре в условиях вакуума), нагревания или обработки химическими веществами (формалином, формальдегидом). К ним относятся вакцины против коклюша (АКДС), вирусного гепатита А («Вакта», «Аваксим», «ГЕП-А-ин-ВАК»), клещевого энцефалита («Концентрированная сухая вакцина»), «Инактивированная цельновирионная гриппозная вакцина», «Холерная вакцина», «Лептоспирозная концентрированная жидкая вакцина» и др.

Субъединичные вакцины

Субъединичные вакцины содержат только поверхностные антигены, что позволяет уменьшить в вакцине содержание белка и, следовательно, снизить ее аллергенность. К субъединичным вакцинам относятся вакцины против пневмококковой («Пневмо 23»), менингококковой («Менинго А+С»), ге-мофильной («Акт-ХИБ») инфекций, гриппа («Гриппол», «Агриппал S1», «Инфлювак») и др.

Сплит-вакцины

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 143 -</p>
--	---	---	----------------

Сплит-вакцины изготавливают из разрушенных вирусов. Они содержат фрагментированные и очищенные частицы, в том числе поверхностные белки и другие компоненты вирусов. В эту группу входят вакцины против гриппа («Бегри-вак», «Ваксигрип», «Флюарикс») и др.

Рекомбинантные вакцины

Рекомбинантные вакцины относятся к новому поколению иммунных препаратов, произведенных посредством встраивания антигена вируса в геном дрожжевых клеток. Представителем данной группы является вакцина против вирусного гепатита В («Энджерикс», «Комбиотех»).

Хранение и применение инактивированных вакцин:

- эта группа препаратов теряет свою иммуногенность и увеличивает реактогенность при замораживании;
- вакцины должны храниться при температуре 4-8°C;
- для создания длительной защиты требуется неоднократное введение инактивированных вакцин (так как их эффективность ниже, чем у живых).

Химические вакцины

Препараты, содержащие наиболее активные по иммунологическим свойствам антигены (протективные), извлекаемые из микробных клеток различными методами (например, ферментативным перевариванием с последующим осаждением антигена этиловым спиртом).

Преимущества химических вакцин:

- 1) из микробных клеток выделяются иммунологически активные субстанции – изолированные антигены (комплекс – липополисахариды с полипептидами и протективные антигены);
- 2) они менее реактогенны;
- 3) стабильны и лучше стандартизируются.

Анатоксин

Это экзотоксин, лишенный токсических свойств, но сохранивший антигенные свойства. Они легко дозируются и комбинируются с другими вакцинами. При введении анатоксинов вырабатывается анитоксигический иммунитет. Используют дифтерийный, столбнячный, стафилококковый анатоксины, а также анатоксины против ботулизма и газовой гангрены.

Различают моновакцины (содержащие один антиген), ассоциированные, или комбинированные (имеющие несколько антигенов), и поливалентные вакцины (состоящие из различных штаммов одного вида микроорганизмов).

Комбинированные или ассоциированные вакцины.

К комбинированным вакцинам относят искусственные вакцины. Они представляют собой препараты, состоящие из микробного антигенного компонента (обычно выделенного и очищенного или искусственно синтезированного антигена возбудителя) и синтетических полиионов (полиакриловая кислота, поливинилпирролидон и др.) – мощных стимуляторов иммунного ответа. Содержанием этих веществ они и отличаются от химических убитых вакцин.

Первая такая отечественная вакцина – гриппозная полимерсубъединичная (Триппол"), разработанная в Институте иммунологии МЗ РФ, уже внедрена в практику российского здравоохранения.

Вакцины, содержащие антигены бактерий и анатоксины, называются ассоциированными. Это вакцина АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина), в которой коклюшный компонент представлен убитой коклюшной вакциной, а



дифтерийный и столбнячный соответствующими анатоксинами, вакцина ГАВТе, содержащая 0-антитигены брюшнотифозных, паратифозных А и В бактерий, и столбнячный анатоксина.

Требования, предъявляемые к вакцинам:

Вакцины должны обладать высокой иммуногенностью (обеспечивать надежную противоинфекционную защиту), ареактивностью (не давать выраженных побочных реакций), безвредностью для макроорганизма и минимальным сенсибилизирующим действием.

Вспомогательные вещества:

К вспомогательным веществам вакцин относятся адсорбенты, консерванты, эмульгаторы, индикаторы рН, стабилизаторы.

Адсорбенты (адъюванты) — нерастворимые соли алюминия (фосфат или гидроксид), усиливающие действие вакцины и, следовательно, значительно увеличивающие силу иммунного ответа. Иногда в качестве адсорбентов используются транспортные белки (они входят в состав дифтерийного, столбнячного анатоксинов).

Консерванты нужны для подавления размножения «посторонних» микроорганизмов. Для этой цели используют тимерсал (мертиолят), формальдегид, феноксиэтанол, фенол и антибиотики (неомицин, гентамицин, полимиксин). Содержание консервантов в вакцинах крайне низкое, и в таких концентрациях они не представляют какой-либо опасности.

Небольшие количества эмульгаторов добавляют для улучшения растворения сухих вакцин.

При производстве многих сухих вакцин в качестве стабилизаторов используют декстран, сахарозу, сорбит, желатин, альбумин.

В качестве индикатора рН часто используют метиловый красный. Можно сразу обнаружить «сдвиг» показателя кислотности по изменению цвета препарата и забраковать вакцину.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ КАЛЕНДАРЬ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРИВИВОК

Список изменяющих документов

(в ред. Приказа Минздрава России от 16.06.2016 N 370н)

Категории и возраст граждан, подлежащих обязательной вакцинации	Наименование профилактической прививки
Новорожденные в первые 24 часа жизни	Первая вакцинация против вирусного гепатита В <1>
Новорожденные на 3 - 7 день жизни	Вакцинация против туберкулеза <2>
Дети 1 месяц	Вторая вакцинация против вирусного гепатита В <1>
Дети 2 месяца	Третья вакцинация против вирусного гепатита В (группы риска) <3>
	Первая вакцинация против пневмококковой инфекции
Дети 3 месяца	Первая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка



	Первая вакцинация против полиомиелита <4>
	Первая вакцинация против гемофильной инфекции (группы риска) <5>
Дети 4,5 месяцев	Вторая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка
	Вторая вакцинация против гемофильной инфекции (группы риска) <5>
	Вторая вакцинация против полиомиелита <4>
	Вторая вакцинация против пневмококковой инфекции
Дети 6 месяцев	Третья вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка
	Третья вакцинация против вирусного гепатита В <1>
	Третья вакцинация против полиомиелита <6>
	Третья вакцинация против гемофильной инфекции (группа риска) <5>
Дети 12 месяцев	Вакцинация против кори, краснухи, эпидемического паротита
	Четвертая вакцинация против вирусного гепатита В (группы риска) <3>
Дети 15 месяцев	Ревакцинация против пневмококковой инфекции
Дети 18 месяцев	Первая ревакцинация против полиомиелита <6>
	Первая ревакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка
	Ревакцинация против гемофильной инфекции (группы риска)
Дети 20 месяцев	Вторая ревакцинация против полиомиелита <6>
Дети 6 лет	Ревакцинация против кори, краснухи, эпидемического паротита
Дети 6 - 7 лет	Вторая ревакцинация против дифтерии, столбняка <7>
	Ревакцинация против туберкулеза <8>
Дети 14 лет	Третья ревакцинация против дифтерии, столбняка <7>



	Третья ревакцинация против полиомиелита <6>
Взрослые от 18 лет	Ревакцинация против дифтерии, столбняка - каждые 10 лет от момента последней ревакцинации
Дети от 1 года до 18 лет, взрослые от 18 до 55 лет, не привитые ранее	Вакцинация против вирусного гепатита В <9>
Дети от 1 года до 18 лет (включительно), женщины от 18 до 25 лет (включительно), не болевшие, не привитые, привитые однократно против краснухи, не имеющие сведений о прививках против краснухи (в ред. Приказа Минздрава России от 16.06.2016 N 370н)	Вакцинация против краснухи, ревакцинация против краснухи
Дети от 1 года до 18 лет (включительно) и взрослые до 35 лет (включительно), не болевшие, не привитые, привитые однократно, не имеющие сведений о прививках против кори; взрослые от 36 до 55 лет (включительно), относящиеся к группам риска (работники медицинских и образовательных организаций, организаций торговли, транспорта, коммунальной и социальной сферы; лица, работающие вахтовым методом, и сотрудники государственных контрольных органов в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации), не болевшие, не привитые, привитые однократно, не имеющие сведений о прививках против кори (в ред. Приказа Минздрава России от 16.06.2016 N 370н)	Вакцинация против кори, ревакцинация против кори <10>
Дети с 6 месяцев, учащиеся 1 - 11 классов; обучающиеся в профессиональных образовательных организациях и	Вакцинация против гриппа



образовательных организациях высшего образования; взрослые, работающие по отдельным профессиям и должностям (работники медицинских и образовательных организаций, транспорта, коммунальной сферы); беременные женщины; взрослые старше 60 лет; лица, подлежащие призыву на военную службу; лица с хроническими заболеваниями, в том числе с заболеваниями легких, сердечно-сосудистыми заболеваниями, метаболическими нарушениями и ожирением

<1> Первая, вторая и третья вакцинации проводятся по схеме 0-1-6 (1 доза - в момент начала вакцинации, 2 доза - через месяц после 1 прививки, 3 доза - через 6 месяцев от начала вакцинации), за исключением детей, относящихся к группам риска, вакцинация против вирусного гепатита В которых проводится по схеме 0-1-2-12 (1 доза - в момент начала вакцинации, 2 доза - через месяц после 1 прививки, 2 доза - через 2 месяца от начала вакцинации, 3 доза - через 12 месяцев от начала вакцинации).

<2> Вакцинация проводится вакциной для профилактики туберкулеза для щадящей первичной вакцинации (БЦЖ-М); в субъектах Российской Федерации с показателями заболеваемости, превышающими 80 на 100 тыс. населения, а также при наличии в окружении новорожденного больных туберкулезом - вакциной для профилактики туберкулеза (БЦЖ).

<3> Вакцинация проводится детям, относящимся к группам риска (родившимся от матерей - носителей HBsAg, больных вирусным гепатитом В или перенесших вирусный гепатит В в третьем триместре беременности, не имеющих результатов обследования на маркеры гепатита В, употребляющих наркотические средства или психотропные вещества, из семей, в которых есть носитель HBsAg или больной острым вирусным гепатитом В и хроническими вирусными гепатитами).

<4> Первая и вторая вакцинации проводятся вакциной для профилактики полиомиелита (инактивированной).

<5> Вакцинация проводится детям, относящимся к группам риска (с иммунодефицитными состояниями или анатомическими дефектами, приводящими к резко повышенной опасности заболевания гемофильной инфекцией; с онкогематологическими заболеваниями и/или длительно получающим иммуносупрессивную терапию; детям, рожденным от матерей с ВИЧ-инфекцией; детям с ВИЧ-инфекцией; детям, находящимся в домах ребенка).

<6> Третья вакцинация и последующие ревакцинации против полиомиелита проводятся детям вакциной для профилактики полиомиелита (живой); детям, рожденным от матерей с ВИЧ-инфекцией, детям с ВИЧ-инфекцией, детям, находящимся в домах ребенка - вакциной для профилактики полиомиелита (инактивированной).

<7> Вторая ревакцинация проводится анатоксинами с уменьшенным содержанием



антигенов.

<8> Ревакцинация проводится вакциной для профилактики туберкулеза (БЦЖ).

<9> Вакцинация проводится детям и взрослым, ранее не привитым против вирусного гепатита В, по схеме 0-1-6 (1 доза - в момент начала вакцинации, 2 доза - через месяц после 1 прививки, 3 доза - через 6 месяцев от начала вакцинации).

<10> Интервал между первой и второй прививками должен составлять не менее 3 месяцев.

Общая вирусология

Цель занятия: - научиться методам лабораторной диагностики вирусных инфекций.

Знать:

- морфологию и физиологию вирусов ,
- принципы классификации
- методы культивирования вирусов,
- методы лабораторной диагностики.
- интерпретировать результаты лабораторных исследований.

Природа вирусов и их изучение	<p><u>Вирусы</u> - это ультрамикроскопические организмы, обладающие одним типом нуклеиновой кислоты , лишённые систем метаболизма и характеризующиеся внутриклеточным паразитизмом.</p> <p><u>Открыты</u> Д. И. Ивановским в 1892 г. (Возбудители «табачной мозаики») Вирусы включены в царство <i>Vira</i>, которое разделено на 2 подцарства: - <i>рибовирусы</i>, - <i>дезоксивирусы</i>.</p> <p>Подцарства делятся на: - семейства, - роды, - виды,</p> <p><u>Основные свойства вирусов:</u></p> <ol style="list-style-type: none">1. Ультрамикроскопические размеры.2. Вирусы содержат нуклеиновую кислоту одного типа ДНК или РНК. ДНК - содержащие: вирус натуральной оспы , вирус герпеса , вирус гепатита В и др. РНК - содержащие: вирус полиомиелита, вирус гриппа, вирус кори вирус краснухи и др.3. Вирусы неспособны к росту и бинарному делению.4. Вирусы размножаются путём воспроизведения из собственной геномной нуклеиновой кислоты только в живых клетках.5. У вирусов отсутствуют собственные системы мобилизации энергии. Нет белоксинтезирующих систем . В связи с этим вирусы являются абсолютными внутриклеточными паразитами, Вирусы существуют в двух формах: <i>внеклеточная форма</i> - вирион; и <i>внутриклеточная</i> - вирус. <p>В зависимости от круга хозяев вирусы делят на:</p> <ul style="list-style-type: none">- вирусы человека- вирусы животных,- вирусы растений,- вирусы насекомых,
--------------------------------------	---



- вирусы бактерий.

Строение

Размеры вирионов варьируют от 15 - 18 до 300 - 400 нм. Они могут иметь разнообразную форму:

- палочковидную,
- нитевидную,
- сферическую,
- кубовидную,
- сперматозоидную.

Вирион состоит из **генома** (нуклеиновая кислота), окруженного одной или двумя оболочками .

Белковая оболочка, в которой содержится геномная нуклеиновая кислота, называется **капсидом**. Капсид состоит из одинаковых белковых субъединиц - **капсомеров**. Число капсомеров строго специфично для каждого вида и зависит от размеров и морфологии вирионов. Вирусные капсиды имеют упорядоченную организацию , в основе которой лежат принципы спиральной или кубической симметрии . Основные функции капсида - защита генома от внешних воздействий и обеспечение адсорбции и проникновения вируса в клетку. Простые вирусы представляют собой нуклеокапсиды: они состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки (капсида). Сложные вирусы имеют вторую оболочку - **суперкапсид**, состоящую из двух слоев липидов и вирусных белков, которые образуют на наружной поверхности шипы.

Методы культивирования вирусов.

В 1932 году Р. Гудпасчура предложил использовать для культивирования вирусов куриные эмбрионы (7 - 15 дней). Заражение производят на хорионаллантоисную оболочку, в аллантоисную полость , желточный мешок , в амниотическую полость в тело зародыша. Выбор метода заражения зависит от свойств вируса.

В 1949 году была предложена культура первичнотрипсинизированных клеток почки обезьяны.

Культуры клеток получают после диспергирования соответствующих органов и тканей. При помещении их на плоскую поверхность они растут в виде монослоя, при этом используют специальные питательные среды (среда Игла, 199) .содержащие набор аминокислот, углеводов, витамины, бычью сыворотку.

А) Первичные и вторичные культуры - это суспензии клеток смешанного типа обладают определённой продолжительностью жизни (2-3 недели) и не подлежат дальнейшему культивированию.

Б) Линии диплоидных клеток - пригодны к повторному диспергированию и росту (не более 30 пассажей).

В) Перевиваемые линии - способны к многократному диспергированию и перевиванию (He La; Нер - 2).

О размножении вирусов в культурах клеток судят по их цитопатическому действию (ЦПД).

Цитопатическое действие вирусов проявляется в виде



**Взаимо -
действие вируса
с клеткой**

следующих изменений:

1. Равномерная мелкозернистая деструкция клеток (полиовирусы , вирусы Коксаки).
2. Очаговая мелкозернистая дегенерация клеток (вирус гриппа).
3. Гроздевидная дегенерация клеток (аденовирусы).
4. Крупнозернистая равномерная деструкция клеток (вирус герпеса).
5. симластообразование (вирус кори).

О заражении вирусами клеток можно судить по изменению индикатора, добавляемого к питательной среде. Если клетки активно осуществляют метаболизм , рН среды сдвигается в кислую сторону, и среда окрашивается жёлтый цвет. В случае репродукции вируса клетки погибают, рН не изменяется и среда сохраняет исходный цвет. Широкое распространение получил **метод бляшек** (Р. Дюльбекко, 1952 г.), позволяющий производить количественное определение вирусов.

Для выделения вирусов монослой клеток после удаления питательной среды заражают вирусосодержащим материалом и покрывают слоем агара, содержащего индикатор. Флаконы инкубируют при 37 С. Через 48 - 96 часов выявляют пятна - бляшки. Они имеют диаметр, равный 1-3 мм и выглядят неокрашенными на розовом фоне. Пятна возникают за счёт цитопатического действия вирусов.

Жизненный цикл вирусов начинается с их адсорбции на мембране клетки - мишени и заканчивается выходом вновь синтезированных вирионов из клетки.

Цикл включает следующие стадии:

1 Адсорбция - реализуется через взаимодействие со специфическими поверхностными рецепторами.

а) Процесс адсорбции не зависит от температуры и не требует энергетических затрат. Протекает в 2 фазы, (Iфаза - ионное притяжение между вирусом и клеткой, носит неспецифический характер. II фаза - физическое прикрепление вирусной частицы к соответствующему поверхностному рецептору).

б) На процесс адсорбции влияет тканевая специфичность (например, полиовирус адсорбируется только на клетках ЦНС человека).

в) « Множественность заражения » определяется количеством инфекционных вирусных частиц, адсорбированных на клетке.

2. Проникновение вируса в клетку протекает в виде следующих механизмов:

а) - посредством пиноцитоза (вириопексис).

б)-с помощью протеолитических ферментов вируса, растворяющих клеточную оболочку хозяина.

в) - посредством слияния суперкапсида вируса с мембраной клетки (обусловлено вирусными гликопротеинами).

3. «Раздевание» вириона - заключается в депротенизации и освобождении от суперкапсида и капсида.



	<p>4. Синтез вирусных частиц - включает образование нуклеиновых кислот, ферментов, регуляторных белков. РНК - содержащие вирусы вначале индуцируют синтез белка (с помощью и-РНК или РНК-зависимой ДНК-полимеразы). ДНК - содержащие и двухнитевые РНК - содержащие вирусы синтезируют нуклеиновые кислоты (с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы хозяина).</p> <p>5. Сборка или морфогенез вириона, Формирование вириона возможно только при строго упорядоченном соединении вирусных структурных полипептидов и их нуклеиновой кислоты. Это обеспечивается самосборкой белковых молекул вокруг нуклеиновых кислот. Этот процесс может происходить в цитоплазме или в ядре клетки хозяина.</p> <p>6. Выход вирионов из клетки хозяина. <i>а)</i> вирионы могут « просачиваться » через оболочку; нуклеокапсиды при этом покрываются суперкапсидом; <i>б)</i> с помощью-протеолитических ферментов; <i>в)</i> « быстрое » высвобождение вирионов из клетки, которая после этого погибает.</p> <p>Взаимодействие вируса с клеткой, заканчивающееся образованием вирусного потомства называется <u>продуктивным</u>. Возможен <u>абортивный</u> тип взаимодействия, не завершающийся образованием новых вирусных частиц, поскольку инфекционный процесс прерывается на одном из этапов. И <u>интегративный тип</u> или <u>виrogenия</u>, характеризуется встраиванием - вирусной ДНК в хромосому клетки хозяина.</p>
<p><i>Методы</i></p>	<p><u>1 Вирусоскопический метод</u></p>



<p>диагностики вирусных инфекций</p>	<p>а) световая микроскопия;</p> <p>б) электронная микроскопия;</p> <p>е) метод иммунной электронной микроскопии в основе этого метода лежит взаимодействие антител с вирусами при смешивании вируссодержащего материала со специфической сывороткой;</p> <p>г) иммунофлюоресцентный метод (прямой и непрямой) с использованием флюоресцирующих сывороток.</p>	<p>Применяется для обнаружения крупных вирусов (оспы, гриппа) в окраске по Морозову и внутриклеточных вирусных включений в окраске по Туревичу и Муромцеву.</p> <p>Дает возможность обнаружить ультраструктуру вириона.</p> <p>В результате реакции. образуется микропреципитаты, состоящие из вирусных частиц, покрытых своеобразным «венчиком».</p> <p>При положительной реакции в люминесцентном микроскопе наблюдается специфическое свечение. Применяется для экспрессдиагностики.</p>
<u>2. Вирусологический метод.</u>		
	<p>Этот метод основан на культивировании вирусов с использованием культур клеток или куриных эмбрионов и их последующей индикации и идентификации.</p> <p><u>Индикацию вирусов осуществляют:</u> - по характеру специфических поражений оболочек и тела эмбриона;</p> <p>по феномену гемагглютинации;</p> <p>- по цитопатическому действию вируса (ЦПД);</p>	<p>О развитии вируса свидетельствует изменение цвета оболочек, появление белых бляшек (при натуральной оспе), гибель эмбриона.</p> <p>Склеивание эритроцитов под действием гемагглютинина вирусов.</p> <p>Морфологические изменения клеток вплоть до их гибели.</p>



	<p>- по образованию в клетках включений;</p> <p>- по образованию бляшек;</p> <p>- по феномену гемадсорбции;</p> <p>- по «цветной» реакции;</p> <p><u>Для идентификации вирусов</u> используют материал от больного (смыв из носоглотки), аллантоисную или амниотическую жидкость заражённого куриного эмбриона, культуру клеток. Ставят реакции: -торможения (задержки) гемагглютинации(РТГА);' - торможения (задержки) гемадсорбции(РТГАд); - связывания комплемента (РСК); - нейтрализации (РН)</p>	<p>Включения представляют собой скопления вирусных частиц, вирусных белков или клеточного материала в цитоплазме или ядре клеток.</p> <p>Бляшки или негативные «колонии» вирусов - участки разрушенных вирусами клеток на однослойных клеточных культурах.</p> <p>Клеточные культуры , заражённые вирусом, способны адсорбировать на своей поверхности эритроциты.</p> <p>При репродукции вирусов в культуре клеток нарушается их нормальный метаболизм и среда сохраняет свой первоначальный цвет.</p> <p>Для постановки реакций идентификации используются специфические иммунные сыворотки, позволяющие определить вид, тип, вируса.</p>
	<u>3. Серологический метод.</u>	
	Применяется для обнаружения в сыворотке крови больного специфических противовирусных	Определяют титр антител в парных сыворотках.



	антител в реакциях : - РТГА; - РТГАд; - РСК; - РН.	В этих реакциях используются антигены вирусов (диагностикумы).
	4. Биологический метод .	
	Основан на использовании животных, чувствительных к соответствующему вирусу.	Применяют для культивирования, индикации и идентификации вирусов.

ТЕСТЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

Правила ответов: к каждому вопросу даны два ответа; если правилен первый ответ, он обозначается буквой А, второй – Б, оба правильны – В, оба неправильны – Г.

Морфология, физиология бактерий

1. Бактерии относятся к организмам:
 - a. животным;
 - b. растительным.
2. Бактерии относятся к:
 - a. прокариотам;
 - b. эукариотам.
3. Прокариотическая клетка имеет:
 - a. морфологически оформленное ядро;
 - b. аппарат Гольджи.
4. Прокариотическая клетка имеет:
 - a. митохондрии;
 - b. мезосомы.
5. Прокариотическая клетка имеет:
 - a. ядерную мембрану;
 - b. митотический процесс.
6. Морфологию бактерий изучают сухой системой микроскопа:
 - a. с малым увеличением;
 - b. большим увеличением.
7. Морфологию бактерий изучают с помощью:
 - a. иммерсионной микроскопии;
 - b. в неокрашенных мазках.
8. Морфологию бактерий изучают:
 - a. в окрашенных мазках;
 - b. методом иммерсионной микроскопии.
9. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки
 - a. нуклеоид;
 - b. спора.
10. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:
 - a. капсула;
 - b. клеточная стенка.
11. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:
 - a. цитоплазматическая мембрана;



- в. цитоплазма.
12. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:
- а. жгутики;
 - в. капсулы.
13. Обязательный структурный компонент бактериальной клетки:
- а. рибосомы;
 - в. митохондрии.
14. Функция клеточной стенки:
- а. защитная;
 - в. локализация цепи переноса электронов.
15. Функция клеточной стенки:
- а. формообразующая;
 - в. осмотического стабилизатора.
16. Отношение к окраске по Граму зависит от:
- а. строения клеточной стенки;
 - в. состава цитоплазмы.
17. Клеточная стенка грамположительных бактерий содержит:
- а. многослойный муреиновый каркас;
 - в. тейхоевые кислоты.
18. Клеточная стенка грамотрицательных бактерий содержит:
- а. многослойный муреиновый каркас;
 - в. тейхоевые кислоты.
19. Метаболизм бактерий идет с преобладанием процессов:
- а. распада;
 - в. синтеза.
20. Аэробный распад белка обозначается термином:
- а. тление;
 - в. гниение.
21. Анаэробный распад белка обозначается термином:
- а. тление;
 - в. гниение.
22. Аэробный распад углеводов обозначается термином:
- а. брожение;
 - в. тление.
23. Анаэробный распад углеводов обозначается термином:
- а. брожение;
 - в. тление.
24. Изучение метаболизма бактерий позволяет:
- а. установить их принадлежность к виду;
 - в. выявить внутривидовые различия.
25. Органические источники углерода используют:
- а. гетеротрофы;
 - в. автотрофы.
26. Неорганические источники углерода используют:
- а. гетеротрофы;
 - в. метатрофы.
27. Зависимость бактерий оттого или иного субстрата обозначается термином:
- а. ауксотрофность;



- в. паратрофность.
28. По типу получения энергии микроорганизмы делятся на:
- облигатные анаэробы;
 - факультативные анаэробы.
29. По типу получения энергии микроорганизмы делятся на:
- аэробы;
 - прототрофы.
30. Поступление питательных веществ в клетку происходит путем:
- активного транспорта;
 - пассивного транспорта.
31. Активный транспорт идет:
- по градиенту концентрации;
 - против градиента концентрации.
32. Пассивный транспорт идет:
- без затрат энергии;
 - с затратой энергии.
33. Питательная среда известного состава называется:
- химической;
 - синтетической.
34. Простой средой является:
- кровяной агар;
 - мясопептонный агар.
35. Сложной средой является:
- сахарный бульон;
 - мясопептонный бульон.
36. К элективным средам относятся:
- 1%-ная пептонная вода;
 - кровяной агар.
37. К дифференциально-диагностическим средам относятся:
- желчный бульон;
 - среда Эндо.
38. К дифференциально-диагностическим средам относятся:
- кровяной агар;
 - среды Гисса.
39. Требование, предъявляемое к питательным средам:
- стерильность;
 - питательность.
40. Требование, предъявляемое к питательным средам:
- изотоничность;
 - прозрачность.
41. Определение протеолитической активности производят при посеве на:
- желатин;
 - среды Гисса.
42. Определение сахаролитической активности производят при посеве на:
- желатин;
 - среды Гисса.
43. Простые питательные среды стерилизуют в автоклаве:
- при 0,5 атм;



- в. при 1 атм.
44. Среды с углеводами стерилизуют в:
- а. печи Пастера;
- б. в автоклаве при 0,5 атм.
45. Лабораторную посуду стерилизуют в:
- а. термостате;
- б. печи Пастера.
46. Лабораторную посуду стерилизуют в автоклаве:
- а. при 0,5 атм;
- б. при 1 атм.
47. Уничтожение (убивка) заразного материала производится в:
- а. печи Пастера;
- б. анаэроустате.
48. Уничтожение (убивка) заразного материала производится в автоклаве:
- а. при 0,5 атм;
- б. при 1 атм.
49. Метод контроля качества стерилизации в автоклаве:
- а. бактериологический;
- б. физический.
50. Чистую культуру бактерий можно выделить:
- а. механическим разобщением на твердых средах;
- б. посевом на элективные среды.
- Ответы:* 1-Б; 2-А; 3-Г; 4-Б; 5-Г; 6-Г; 7-А; 8-В; 9-А; 10-Б; 11-В; 12-Г; 13-А; 14-А; 15-В; 16-А; 17-В; 18-Г; 19-А; 20-А; 21-Б; 22-Г; 23-А; 24-В; 25-А; 26-Г; 27-А; 28-В; 29-А; 30-В; 31-Б; 32-А; 33-Б; 34-Б; 35-А; 36-А; 37-Б; 38-Б; 39-В; 40-В; 41-А; 42-Б; 43-Б; 44-Б; 45-Б; 46-Г; 47-Г; 48-Б; 49-В; 50-В

Микрофлора человека и санитарная бактериология

1. Синонимы резидентной микрофлоры:
- а. нормальная;
- б. транзиторная.
2. В организме человека в норме стерильны:
- а. кровь;
- б. мокрота.
3. В организме человека в норме стерильны:
- а. матка;
- б. мочевой пузырь.
4. Высокой бактериальной обсемененностью характеризуется:
- а. толстый кишечник;
- б. альвеолы легких.
5. Функция нормальной микрофлоры:
- а. антагонистическая;
- б. витаминообразующая.
6. Дисбактериоз – это:
- а. эндогенный токсикоз;
- б. качественное и количественное изменение нормальной микрофлоры.
7. Причина дисбактериоза:
- а. антибиотикотерапия;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 158 -</p>
--	---	---	----------------

- b. тяжёлые инфекции.
8. Показатель дисбактериоза:
 - a. увеличение общего количества бактерий;
 - b. изменение биологических свойств штаммов нормальной микрофлоры.
9. Метод лабораторной диагностики дисбактериоза:
 - a. количественный бактериологический анализ;
 - b. хроматографический анализ продуктов метаболизма.
10. Для коррекции дисбактериоза используют:
 - a. антибиотики;
 - b. эубиотики.
11. Препарат для бактериотерапии:
 - a. колибактфин;
 - b. колибактериофаг.
12. Обязательный санитарно-бактериологический контроль воздуха проводят в:
 - a. операционных;
 - b. родильных залах.
13. Метод посева воздуха:
 - a. седиментационный;
 - b. аспирационный.
14. Метод определения колли-титра:
 - a. седиментационный;
 - b. мембранных фильтров.
15. Санитарно-бактериологическое исследование проводится для:
 - a. обнаружения патогенных бактерий;
 - b. обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов.
16. Санитарно-показательными микробами при бактериологическом исследовании почвы являются:
 - a. стафилококки;
 - b. кишечная палочка.
17. Показатели микробного загрязнения почвы:
 - a. общее микробное число;
 - b. перфрингенс-титр.
18. Показатели микробного загрязнения воды:
 - a. общее микробное число;
 - b. колли-титр.
19. Показатели микробного загрязнения воздуха:
 - a. гемолитические стафилококки;
 - b. общее микробное число.
20. Санитарно-показательные микробы воды:
 - a. холерный вибрион;
 - b. кишечная палочка.

Ответы: 1-А; 2-А; 3-В; 4-А; 5-В; 6-Б; 7-В; 8-Б; 9-В; 10-Б; 11-А; 12-В; 13-В; 14-Б; 15-Б; 16-Б; 17-В; 18-В; 19-В; 20-Б.

Инфекция

1. Термином «инфекция» обозначается:
 - a. сумма биологических реакций, которыми организм отвечает на внедрение микробного агента;



- b. вакцинальный процесс, вызванный живыми вакцинами.
2. Инфекционной болезнью является:
 - a. клиническое проявление инфекции;
 - b. инфицирование макроорганизма микробным агентом.
3. Инфекционный процесс – это:
 - a. ответная реакция коллектива на внедрение и циркуляцию микробного агента;
 - b. клиническое проявление инфекции.
4. Для возникновения инфекции необходимы:
 - a. микробный агент;
 - b. восприимчивый организм.
5. Для возникновения инфекции необходимы:
 - a. микробный агент;
 - b. внешняя среда.
6. Способность микроорганизмов проникать в организм и размножаться в нём – это:
 - a. патогенность;
 - b. вирулентность.
7. Патогенность – это признак:
 - a. качественный;
 - b. количественный.
8. Патогенность – это признак:
 - a. видовой;
 - b. штаммовый.
9. Вирулентность – это признак:
 - a. качественный;
 - b. количественный.
10. Вирулентность – это признак:
 - a. видовой;
 - b. штаммовый.
11. Вирулентность измеряется:
 - a. количеством микроорганизмов;
 - b. весовыми единицами (мг).
12. При определении вирулентности имеет значение:
 - a. вид животного;
 - b. способ заражения.
13. При определении вирулентности имеет значение:
 - a. вес животного;
 - b. вид животного.
14. Фактор вирулентности – это:
 - a. капсулы;
 - b. реснички адгезии.
15. Фактор вирулентности – это:
 - a. капсулы;
 - b. эндотоксин.
16. Фактор вирулентности – это:
 - a. ферменты агрессии и защиты;
 - b. экзотоксин.
17. Болезни людей и животных, вызываемые микробами, способными развиваться вне организма во внешней среде, – это:



- a. сапронозы;
- b. антропонозы.
18. Болезни, поражающие только человека – это:
 - a. сапронозы;
 - b. антропонозы.
19. Болезни, поражающие людей и животных – это:
 - a. антропонозы;
 - b. зооантропонозы.
20. Экзотоксины – это:
 - a. вещества белковой природы;
 - b. обладают специфичностью действия.
21. Экзотоксины – это:
 - a. липополисахариды;
 - b. способные превращаться в анатоксин.
22. Эндотоксины – это:
 - a. белки;
 - b. обладают специфичностью действия.
23. Эндотоксины – это:
 - a. способны превращаться в анатоксины;
 - b. липополисахариды.
24. Для инфекционных болезней характерны:
 - a. цикличность течения;
 - b. общие симптомы.
25. Для инфекционных болезней характерны:
 - a. развитие постинфекционного иммунитета;
 - b. безопасность для окружающих.
26. Естественный путь передачи инфекционных болезней:
 - a. воздушно-капельный;
 - b. фекально-оральный.
27. Естественный путь передачи инфекционных болезней:
 - a. трансмиссивный;
 - b. контактно-бытовой.
28. Естественный путь передачи инфекционных болезней:
 - a. контактно-бытовой;
 - b. инъекции; трансфузии; трансплантация тканей.
29. Искусственный путь передачи инфекционных болезней:
 - a. катетеризация; эндоскопические исследования; эндоскопические операции;
 - b. половой контакт.
30. Инфекционные болезни бывают:
 - a. острые;
 - b. хронические.
31. Инфекционные болезни бывают:
 - a. бактериальные;
 - b. вирусные.
32. Инфекционные болезни бывают:
 - a. протозойные;
 - b. грибковые.
33. Внешняя среда влияет на развитие инфекции через изменение:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 161 -</p>
--	---	---	----------------

- a. вирулентности микроорганизмов;
 - b. резистентности макроорганизма.
 - 34. Внешняя среда влияет на развитие инфекции через:
 - a. оптимизацию условий сохранения и распространения микробного агента;
 - b. социальные факторы.
 - 35. Для предупреждения развития инфекционного процесса в настоящее время чаще всего используют воздействие:
 - a. на микробный агент;
 - b. на макроорганизм.
 - 36. Для предупреждения развития инфекционного процесса в настоящее время чаще всего используют воздействие:
 - a. на макроорганизм;
 - b. на среду взаимодействия микро- и макроорганизма.
- Ответы:* 1-В; 2-А; 3-А; 4-Б; 5-В; 6-А; 7-А; 8-А; 9-Б; 10-Б; 11-А; 12-В; 13-В; 14-В; 15-В; 16-В; 17-А; 18-Б; 19-Б; 20-В; 21-Б; 22-Г; 23-Б; 24-В; 25-А; 26-В; 27-В; 28-А; 29-А; 30-В; 31-В; 32-В; 33-В; 34-В; 35-Б; 36-А.

**Частный курс
ВВЕДЕНИЕ В ЧАСТНЫЙ КУРС МИКРОБИОЛОГИИ.
ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ЧАСТНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ.
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Основной задачей микробиологической диагностики инфекционных заболеваний является установление их этиологической природы.

Современная наука вооружила микробиологические лаборатории широким арсеналом методов обнаружения и идентификации возбудителей болезней. От микроскопического исследования до современных молекулярно-биологических методик - таков их диапазон. При всем многообразии эти методы совершенно четко делятся на две группы.

Первая группа методов - это классические, традиционные культуральные методы, целью которых является выделение возбудителя и его идентификация.

Вторая группа методов - это так называемые не культуральные методы ("non-culture methods"), позволяющие обнаруживать возбудитель или какие либо его компоненты непосредственно в клиническом материале без выделения чистой культуры.

Этиологическая структура инфекционного заболевания может быть установлена не только путем выделения микроорганизма-возбудителя из исследуемого материала или индикации (обнаружения) в материале его антигенов или нуклеотидных последовательностей, но и путем выявления образующихся/формирующихся в ходе развития инфекционного заболевания, иммунологических изменений (антител или сенсibilизированных лимфоцитов).

БАКТЕРИИ, ИМЕЮЩИЕ МЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Название рода и вида	Заболевания
----------------------	-------------

ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ		
Стафилококки	Staphylococcus species	Гнойно-воспалительные заболевания



Стрептококки	<i>Streptococcus species</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	То же, скарлатина, рожа Гнойно-воспалительные заболевания
Энтерококки	<i>Enterococcus species</i>	То же
Микрококки	<i>Micrococcus species</i>	
Пептококки	<i>Peptococcus species</i>	
Пептострептококки	<i>Peptostreptococcus species</i>	
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ		
Гонококки	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Гонорея
Менингококки	<i>Neisseria meningitidis</i>	Менингококковая инфекция
Моракселлы	Подроды <i>Moraxella</i> , <i>Branhamella</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Вейлонеллы	<i>Veillonella</i>	То же
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ		
Условно-патогенные энтеробактерии	<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Morganella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Kluyvera</i> , <i>Providencia</i> , <i>Serratia</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Сальмонеллы	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> А, В, С <i>Salmonella enteritidis</i> и др.	Брюшной тиф Паратифы Сальмонеллезы
Шигеллы	<i>Shigella species</i>	Дизентерия
Иерсинии	<i>Yersinia pestis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Чума Кишечный иерсиниоз Псевдотуберкулез
Вибрионы	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Холера Пищевая токсикоинфекция
Пастереллы	<i>Pasteurella species</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Актинобациллы	<i>Actinobacillus species</i>	То же
Гемофилы	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Haemophilus ducreyi</i>	Мягкий шанкр



Калимматобактерии	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	Донованоз
Эйкенеллы	<i>Eikenella corrodens</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ		
Бордетеллы	<i>Bordetella pertussis</i>	Коклюш
Бруцеллы	<i>Brucella species</i>	Бруцеллез
Бартонеллы	<i>Bartonella quintana</i> <i>Bartonella henselae</i>	Траншейная лихорадка Болезнь кошачьих царапин
Франциселлы	<i>Francisella tularensis</i>	Туляремия
Легионеллы	<i>Legionella species</i>	Легионеллез и др.
Кингеллы	<i>Kingella species</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Ацинетобактерии	<i>Acinetobacter species</i>	То же
Псевдомонады	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- « - « -
Стенотрофомонады Буркхольдерии	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia mallei</i>	- « - « - Мелиоидоз Сап
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ		
Бактероиды	<i>Bacteroides species</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Фузобактерии	<i>Fusobacterium species</i>	То же
Лептотрихии	<i>Leptotrichia buccalis</i>	- « - « -
Превотеллы	<i>Prevotella species</i>	- « - « -
Порфиромонады	<i>Porphyromonas species</i>	- « - « -
Билофилы	<i>Bilophila wadsworthia</i>	- « - « -
ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ		
Бациллы	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Bacillus cereus</i>	Сибирская язва Пищевая токсикоинфекция
Клостридии	<i>Clostridium tetani</i> <i>C. perihngens</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. ramosum</i> , <i>C. histolyticum</i> ,	Столбняк Газовая гангрена То же



	C. septicum Clostridium botulinum Clostridium difficile	Ботулизм Псевдомембранозный колит
ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПРАВИЛЬНОЙ ФОРМЫ ПАЛОЧКИ		
Лактобациллы	<i>Lactobacillus species</i>	Представитель микрофлоры
Листерии	<i>Listeria monocytogenes</i>	Листериоз
ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ НЕПРАВИЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ И ВЕТВЯЩИЕСЯ БАКТЕРИИ		
Коринебактерии	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Дифтерия
Микобактерии	(<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. africanum</i> Условно-патогенные микобактерии <i>Mycobacterium Lepae</i>	Туберкулез Микобактериоз Проказа (лепра)
Актиномицеты	<i>Actinomyces species</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Нокардии	<i>Nocardia species</i>	То же
Бифидобактерии	<i>Bifidobacterium species</i>	Представитель микрофлоры
Эубактерии	<i>Eubacterium species</i>	Гнойно-воспалительные заболевания
Пропионибактерии	<i>Propionibacterium species</i>	То же
Мобилункусы	<i>Mobiluncus species</i>	- « -« -

Материал для исследования

Для проведения микробиологического исследования нужен материал, который, несомненно, или вероятно содержит микроорганизм.

Все биологические жидкости, мягкие и твердые ткани, продукты воспалительных процессов являются подходящим материалом для исследования.


Важным моментом считают распределение материала на:

нормально стерильный:

кровь
ликвор
суставная жидкость
плевральная и перитонеальная жидкость
внутричерепное содержимое
внутренние органы, как:

нормально нестерильный:

содержимое полости рта, желудка, кишечника, вагинальное содержимое
наружное ухо
конъюнктивы
поверхность кожных покровов

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 165 -</p>
--	---	---	----------------

печень, селезенка, предстательная железа, яички, матка, железы внутренней секреции

Способы микробиологического исследования и толкования находок подчиняются вышеназванному распределению материалов. При соблюдении правил взятия нормально стерильного материала на исследование легче толковать микробную находку.

Выяснить микробный фактор в нормально нестерильных органах значительно труднее, так как:

- болезнетворность микроорганизмов нужно выявлять среди других несущественных микроорганизмов;
- микроорганизм-возбудитель может относиться к резидентной микрофлоре;
- микроорганизм-возбудитель может быть каким-нибудь слабо патогенным микроорганизмом, который часто обитает в организме человека, не вызывая заболевания.

Исследования и толкование находки микроорганизма могут быть значительно облегчены, если материал достоверен, достаточен по количеству, взят в подходящее время.

Достоверным материал бывает тогда, когда он взят из больного органа (мокрота, а не слюна, средняя порция мочи, а не начальная, секрет из глубины носа, а не из ноздрей, гной из глубины, а не из отверстия свища и др.).

Полученный результат может быть недостоверным в силу того, что больной принимал до обследования антибиотики, которые могут обладать бактерицидным или бактериостатическим эффектом.

Достаточное количество материала дает возможность провести более расширенные исследования. Взятый в подходящее время материал содержит живые микроорганизмы в оптимальном количестве.

Работа над материалом

Сюда относятся: взятие, хранение, транспортировка, обработка.

Взятие материала осуществляется с помощью стерильного инструмента в стерильные сосуды. В некоторых случаях необходимо это проводить в стерильном помещении. Попадание микроорганизмов из внешней среды в материал может помешать развитию микроорганизмов-возбудителей заболевания, так как микроорганизмы-сапрофиты развиваются более активно. Это нередко уводит толкование находки в неправильном направлении.

Хранение материалов происходит при наиболее подходящей температуре, причем надо избегать их высушивания. Рекомендуется прибавлять поддерживающие средства (консерванты), обеспечивающие рН и другие условия для сохранения деликатных микроорганизмов и торможения развития побочных микроорганизмов.

Транспортировка представляет собой часть процесса хранения, к которым прибавляются дополнительные требования, чтобы не повредить материал и не загрязнить окружающую среду при транспортировке заразного материала.

Документация

Материал, посылаемый в лабораторию для исследования, должен иметь сопроводительный бланк, в котором необходимо отметить:

- учреждение, направляющее материал;
- дату направления;
- фамилию, имя, отчество обследуемого;
- возраст,
- адрес;
- где работает или какое учреждение посещает;



- характер материала: кал, мокрота, желчь, кровь и др.;
- цель исследования;
- дата заболевания, предварительный диагноз и др. указания к анализу;
- дата и время сбора материала.

В направлении должна быть точно указана цель исследования для того, чтобы в лаборатории были применены соответствующие методы обработки и питательные среды. Тесная связь между бактериологом, клиницистом и эпидемиологом, направляющим материал для анализа, обеспечивает сознательное, плодотворное отношение работе.

Таблица 1

Показания к бактериологическим исследованиям различных биосубстратов человека

Исследуемый материал	Показания к исследованию	Сроки взятия проб
Испражнения	Ранняя диагностика острых кишечных заболеваний, в том числе с целью подтверждения диагноза при клиническом диагнозе брюшного тифа, паратифов. Контроль при выписке из лечебного учреждения. По эпидемиологическим показаниям, профилактические обследования декретиро-ванных контингентов.	С начала заболевания. Период реконвалесценции. По усмотрению эпидемиолога и санитарного врача.
Кровь	Ранняя диагностика брюшного тифа, паратифов. Лихорадочные состояния неустановленной этиологии. Клиническая картина сепсиса.	С начала заболевания. По указанию клинициста. По усмотрению клинициста и эпидемиолога.
Моча	При клиническом диагнозе брюшного тифа и паратифов с целью подтверждения диагноза. Выявление бактерионосителей. Острые и хронические гнойно-воспалительные заболевания мочевыводящей системы неустановленной этиологии.	С конца 2-ой недели. По указанию эпидемиолога. По усмотрению клинициста.
Желчь и дуоденальное содержимое	Выявление носителей сальмонелл. Острые и хронические гнойно-воспалительные заболевания желчевыводящей системы неустановленной этиологии.	По указанию эпидемиолога. По усмотрению клинициста.
Рвотные массы и	Клинические проявления	В остром периоде.



промывные воды	гастроэнтерита.	
Гной, пунктаты органов, экссудат	Наличие местных гнойно-воспалительных процессов в организме, осложняющих течение основного заболевания или в отсутствии такового.	По указанию клинициста.
Соскоб розеол	Для подтверждения клинического диагноза брюшного тифа и паратифов, как вспомогательный метод (при отсутствии гемо-, копро- и уринокультур).	При наличии розеол.
Отделяемое ран, шейки матки, мокрота, слизь из зева, носа, уха	Наличие гнойно-воспалительных процессов в соответствующих органах.	По указанию клинициста.
Секционный материал	При необходимости подтверждения прижизненного клинического диагноза, ретроспективная диагностика при отсутствии прижизненного диагноза.	В первые 3-6 часов после установления факта смерти.

Методы микробиологической диагностики

В микробиологической лаборатории используются различные методы диагностики:

1. Микроскопический (бактериоскопический, вирусоскопический, микоскопический) — обнаружение микроорганизмов в мазках из исследуемого материала и их первичная морфологическая идентификация.

2. Бактериологический (вирусологический, микологический) — выделение из исследуемого материала чистой культуры и ее идентификация, включая изучение антигенных свойств выделенной культуры (иммуноидентификация).

2.1. Биологический (биопробный) — выделение чистой культуры путем заражения экспериментальных животных.

3. Иммунологический (иммунодиагностика) — использование реакций иммунитета.

3.1. Серодиагностика — выявление в сыворотке (слюне, копрофильтратах) обследуемого антител и нарастания их титра.

3.2. Иммуоинднкация — обнаружение в исследуемом материале антигенов микроорганизмов.


4. Молекулярно-генетические — обнаружение в исследуемом материале нуклеотидных последовательностей (фрагментов ДНК, РНК) микроорганизмов.

1. Аллергический - выявление состояния инфекционной аллергии (инфицированности).

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ

ЭНТЕРОБАКТЕРИИ (семейство *Enterobacteriaceae*)

Общая характеристика. Семейство *Enterobacteriaceae* является самым многочисленным семейством, объединяющим более 40 родов и как следствие имеющим большую степень гетерогенности. Процент ГЦ-пар в ДНК, определяющих степень гетерогенности, варьирует от 36-42% (роды *Proteus*, *Providencia*) до 52-60% (роды *Klebsiella*, *Enterobacter*). Центральное место занимает род *Escherichia* (50-52% ГЦ-пар), который является типовым

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 168 -</p>
--	---	---	----------------

родом. Близкородственное к нему положение занимают роды *Shigella* (50-52% ГЦ-пар), и *Salmonella* (50-53% ГЦ-пар).

Представители семейства *Enterobacteriaceae* широко распространены в природе: их обнаруживают в почве, воде, на растениях и, конечно, в кишечнике человека и животных. Они наиболее часто встречаются при анализе разнообразного клинического материала. Классические кишечные инфекции вызывают безусловно-патогенные представители родов *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* и *Escherichia*, пневмонию и ринит с характерными симптомами вызывают клебсиеллы, из ран и инфицированных мочевых путей часто выделяют *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Enterobacter*, *Klebsiella spp.*

Морфология и физиология. Представители семейства являются грамотрицательными палочками размером 1-5x0,4-0,8 мкм. Спор не образуют, за исключением родов *Shigella* и *Klebsiella*, подвижны за счет перитрихально расположенных жгутиков. Некоторые образуют капсулу. Растут на простых питательных средах, большинство, за исключением рода *Yersinia*, хорошо культивируются при 37 °С. Факультативные анаэробы. Обладают оксидативным и бродильным метаболизмом. Оксидазоотрицательны. Обладают нитратредуктазой. Глюкозу ферментируют муравьино-кислым брожением с образованием как большого количества кислот, выявляемых реакцией метиленового красного, так и 2,3-бутандиола, который определяют в реакции Фогеса-Проскауэра. Некоторые представители семейства при ферментации глюкозы образуют газ. Энтеробактерии обладают широким спектром биохимической активности, которая служит основой для подразделения внутри семейства на роды, а внутри некоторых родов на виды. Ключевыми тестами при первичной идентификации энтеробактерий являются:

- способность образовывать газ при ферментации глюкозы;
- способность расщеплять лактозу;
- продукция сероводорода.

Для родовой идентификации также определяют продукты, образующиеся при ферментации глюкозы (реакции с метиленовым красным и Фогеса-Проскауэра), способность продуцировать индол, расщеплять мочевины, утилизировать цитрат, вырабатывать ферменты, превращающие аминокислоты - декарбоксилазы лизина и орнитина, дезаминазу фенилаланина, а также способность использовать различные моно-, олиго- и полисахариды в качестве энергетического источника.


Антигенная структура. Дифференциация бактерий внутри рода на виды в основном проводится по антигенным свойствам. Энтеробактерии обладают соматическим О-антигеном, могут встречаться жгутиковый Н-антиген и поверхностный К-антиген. Представители некоторых родов, в частности рода *Yersinia*, имеют дополнительные видоспецифические антигены. Антигенной специфичностью обладают также пили IV типа.

Микробиологическая диагностика. Основу микробиологической диагностики инфекционных процессов, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae*, составляет бактериологический метод исследования. Используются также серологический метод и ПЦР.

Эшерихии (*rod Escherichia*)

Род *Escherichia* включает несколько видов, из которых в патологии человека и животных основное значение имеет вид *E. coli.*, впервые описанный в 1885 г. Т. Эшерихом.

Морфология. Прямые грамотрицательные палочки размером 0,4-0,6x2-6 мкм, подвижные за счет перитрихально расположенных жгутиков. **Культуральные свойства.** На плотных средах образуют колонии в R- и S-формах. Колонии в S-формах гладкие, блестящие, полупрозрачные. На жидких средах образуют диффузное помутнение и придонный осадок. **Биохимические свойства.** Обладают выраженной биохимической

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 169 -</p>
--	---	---	----------------

активность. Биохимическими свойствами, составляющими основу дифференциальной диагностики при бактериологическом исследовании, являются:

- продукция кислоты и газа при ферментации глюкозы;
- ферментация лактозы;
- отсутствие продукции сероводорода;
- продукция индола.

Антигенная структура. *E. coli* обладает сложной антигенной структурой. Имеет соматический О-антиген, определяющий серогруппу. Известно около 171 разновидностей этого антигена.

Поверхностный К-антиген может быть представлен 3 антигенами А, В и L, отличающимися по чувствительности к температуре и химическим веществам. У эшерихий встречается более 97 разновидностей К-антигена, преимущественно В-типа. К-антиген обладает способностью маскировать О-антиген, вызывая феномен О-инагглютинабельности. В этом случае О-антиген можно выявить только после разрушения К-антигена кипячением. Типоспецифическим антигеном является Н-антиген, определяющий серовары, которых насчитывается более 57. Антигенная структура определяется формулами серогруппы как О:К:, серовара к5ак О:К:Н:, например О₁₂В₆Н₂.

Факторы патогенности. Представители семейства обладают разнообразными факторами патогенности, которые в различных комбинациях присутствуют в определенных видах. Среди большого разнообразия патогенных факторов можно выделить основные, которые в тех или иных комбинациях присутствуют у патогенных энтеробактерий, обеспечивая развитие патогенеза вызываемого ими заболевания. К ним относятся: эндотоксин, пили IV типа, ТТСС, белковые токсины специфического действия (cito- и энтеротоксины). Следует отметить, что синтез факторов патогенности опосредован генами, локализованными на островках патогенности, плазмидах, конвертирующих бактериофагах.

Эндотоксин играет важную роль в развитии лихорадки, эндо-токсического шока, сопровождающегося лихорадкой, ознобом, гипотензией и тахикардией, принимает участие в развитии диареи через процесс активации каскада арахидоновой кислоты и последующего синтеза простагланлинов.

Начальные этапы инфекции связаны со структурами, обеспечивающими взаимодействие бактерий с поверхностным эпителием кишечника. Этот процесс обеспечивается поверхностными структурами клетки: пилиями IV типа, филаментозными структурами, составляющими ТТСС.

Установлено 4 типа механизма взаимодействия возбудителей острых кишечных инфекций с поверхностным эпителием кишечника (табл. 2).

Таблица 2

Механизмы взаимодействия возбудителей острых кишечных инфекций с поверхностным кишечным эпителием

Тип взаимодействия	Возбудители	Механизм патогенного действия	Факторы патогенности, обеспечивающие процесс
1	2	3	4
1-й тип	ЭТКП	Размножение на поверхности эпителия слизистой оболочки тонкой кишки без повреждения	Пили IV типа (факторы колонизации)
2-й тип	ЭПКП,	Размножение на поверхности эпителия	Пили IV типа (ЭПКП),

	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации	Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся	- 170 -
--	--	--	---------

	ЭГКП	тонкой и толстой кишки с разрушением микроворсинок и повреждением апикальной поверхности (эффект прикрепления/сглаживания)	продукты генетического островка патогенности LEE: белок интимин и эффекторные белки TTCC
3-й тип	Род <i>Shigella</i>	Внедрение и размножение в эпителиальных клетках толстой кишки, цитотоксическое повреждение и гибель эпителиоцитов	Эффекторные белки TTCC: <i>ipa</i> -антигены и белок <i>VirG</i>

1	2	3	4
4-й тип	Род <i>Salmonella</i> , род <i>Yersinia</i>	Трансцитоз эпителия тонкой кишки через М-клетки с инфицированием пейеровых бляшек и последующим размножением в макрофагах	TTCC-1 (<i>Salmonella</i>), продукт гена <i>inv</i> , белок <i>Ail</i> (<i>Yersinia</i>)

Патогенные эшерихии отличаются от условно-патогенных возможностью синтеза факторов патогенности, которые генетически связаны с наличием островков патогенности, конвертирующих фагов и плазмид вирулентности. Патогенные эшерихии подразделяются на возбудителей парентеральных эшерихиозов и диареогенные. Среди возбудителей парентеральных эшерихиозов выделяют уропатогенные эшерихии, являющиеся возбудителями воспалительных процессов мочевыводящей системы. Некоторые из них обладают гемолитическими свойствами. Другие возбудители парентеральных эшерихиозов способны вызвать генерализованные процессы в виде сепсиса и менингита. Около 80% менингитов связаны с *E. coli*, которой новорожденный заражается при прохождении через родовые пути. *E. coli*, вызывающая менингит у новорожденных, обладает микрокапсулой, состоящей из гомополимера сиаловой кислоты. Наличие микрокапсулы придает возбудителю антифагоцитарные свойства, так как микрокапсула перестает опсонизироваться из-за потери способности активировать комплемент.

Диареогенные эшерихии также не являются однородной группой, они подразделяются на ЭПКП, ЭГКП, ЭТКП, ЭИКП, ЭАКП.

Иммунитет. При кишечных эшерихиозах вырабатывается местный иммунитет, опосредованный секреторными IgA. После кишечного эшерихиоза, вызванного ЭТКП, происходит выработка антител к субъединице В LT, иммунологически родственной субъединице В холерного энтеротоксина.

У детей первого года жизни пассивный трансплацентарный иммунитет к ЭПКП обеспечивается проходящими через плаценту IgG. Естественный иммунитет детей первого года жизни обеспечивают бифидобактерии, которые колонизируют кишечник к 5-му дню жизни, и антитела, находящиеся в материнском молоке.


Надежный иммунитет к возбудителям парентеральных эшерихиозов не вырабатывается.

Специфическая профилактика не разработана.

Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил, санитарному контролю за источниками водоснабжения, пищевыми предприятиями, продуктами питания.

Лабораторная диагностика. Основной метод диагностики – бактериологический:

- посев на дифференциально-диагностические среды;
- выделение чистой культуры;
- биохимическая идентификация;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 171 -</p>
--	---	---	----------------

- сероидентификация.

Определение принадлежности к серогруппам позволяет отличить условно-патогенные от диареогенных. Внутривидовая идентификация, имеющая эпидемиологическое значение, заключается в определении серовара с помощью диагностических адсорбированных иммунных сывороток.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Биология возбудителя кишечных эшерихиозов.
2. Эпидемиология, патогенез, клиника.
3. Микробиологическая диагностика.
4. Специфическое лечение и профилактика.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Используя демонстрационный материал провести 2-й и 3-й этапы бактериологического исследования испражнений для выделения возбудителя кишечного эшерихиоза.
2. Оценить результаты посева испражнений на среду Эндо. Результат записать в протокол.
3. Поставить РА с поливалентной ОК – сывороткой.
4. Используя демонстрацию, оценить результаты посева агглютинирующихся ОК – сывороткой, лактозоположительных колоний на среде Клиглера.
5. Определить серогруппу выделенной на среде Клиглера культуры диареогенной кишечной палочки.

ДИЗЕНТЕРИЯ (ШИГЕЛЛЕЗ)

Дизентерия - инфекционное заболевание, характеризующееся общей интоксикацией организма, поносом и своеобразным поражением слизистой оболочки толстой кишки.

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа шигеллеза.

Знать:

- возбудителей дизентерии;
- биологию возбудителей дизентерии;
- эпидемиологию заболевания;
- лабораторную диагностику дизентерии;

Уметь:

- интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа копрокультуры;
- оценить результаты антибиотикограмм;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данной болезни.


ШИГЕЛЛЫ (род *Shigella*)

Род получил название по имени К. Шига, который в 1898 г. летально изучил микроб, известный в настоящее время под названием *S. dysenteriae*, серовара 1.

Род *Shigella* включает 4 вида, которые различаются по биохимическим свойствам и антигенной структуре: *S. dysenteriae* - 12 сероваров; *S. flexneri* - 9 сероваров; *S. Boydii* - 18 сероваров; *S. sonnei* - 1 серовар.

Морфология. Шигеллы - неподвижные палочки размером 0,5-0,7x2-3 мкм, спор и капсулу не образуют.

Культуральные свойства. Хорошо культивируются на простых питательных средах. На плотных средах образуют мелкие гладкие блестящие полупрозрачные колонии, на жидких

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 172 -</p>
--	---	---	----------------

- диффузное помутнение. Жидкой средой обогащения является селенитовый бульон. У *S. sonnei* отмечена при росте на плотных средах S-, R-диссоциация.

Биохимические свойства. Шигеллы обладают слабой биохимической активностью по сравнению с родами *Escherihia* и *Salmonella*.

Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации при выделении чистой культуры:

- не образуют газ при ферментации глюкозы;
- не расщепляют лактозу;
- не продуцируют сероводород.

S. dysenteriae не расщепляет маннитол. *S. sonnei* способен ферментировать лактозу медленно, в течение 72 ч.

Антигенная структура. Все шигеллы обладают соматическим O-антигеном, в зависимости от строения которого происходит подразделение на серовары, а *S. flexneri* внутри сероваров подразделяется на подсеровары. Серовароспецифические O-антигены *S. flexneri* детерминируются конвертирующими бактериофагами. *S. sonnei* обладает антигеном фазы 1, который является K-антигеном.

Факторы патогенности. Все виды шигелл инвазируют слизистую оболочку толстой кишки с последующим межклеточным распространением. Эта способность связана с функционированием крупной плазмиды инвазии, которая имеется у всех 4 видов шигелл. Возбудители дизентерии продуцируют экзотоксин – шигаподобный токсин. Эндотоксин защищает шигеллы от действия низких значений pH и желчи.

Патогенез и клиническая картина. Шигеллезы - это инфекционные заболевания, характеризующиеся поражением толстой кишки с развитием колита и интоксикацией организма. Заболевание характеризуется сложными начальными этапами патогенеза. Проникнув через M-клетки в подслизистую оболочку, шигеллы взаимодействуют с макрофагами, вызывая их апоптоз. В результате происходит выделение цитокинов ИЛ-8, который инициирует развитие воспалительного процесса в подслизистой оболочке и как следствие воспалительной диареи.

Апоптоз фагоцитов позволяет шигеллам проникнуть в эпителиальные клетки с базальной стороны. Межклеточное распространение шигелл приводит к развитию эрозий. При гибели шигелл происходит выделение шига- и шигаподобных токсинов, действие которых вызывает появление крови в испражнениях. Патологический процесс ограничивается толстой кишкой.


Этапы лабораторной диагностики

Первый день исследования

Испражнения наносят на питательную среду и растирают стерильным шпателем на небольшой площадке среды в чашке Петри, затем шпатель отрывают от агара и не прижимая его, продолжают растирать по остальной поверхности среды. Этим достигается равномерный рост колоний по всей поверхности. Засеянные чашки Петри в перевернутом виде помещаются в термостат при 37 (на 18-24 часа). На дне каждой чашки проставляют номер анализа.

Второй день исследования

Чашки с посевом просматривают невооруженным глазом. Просмотр чашек и отбор подозрительных колоний является одним из ответственных этапов бактериологического исследования. На среде Плоскирева дизентерийные бактерии растут в виде мелких, нежных, прозрачных колоний. Подозрительные колонии с чашек пересевают на короткий пестрый ряд для определения основных свойств культур. Короткий пестрый ряд может состоять из сред Гисса с лактозой, глюкозой маннитом и сахарозой (полужидких или

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 173 -</p>
--	---	---	----------------

жидких сред). В зависимости от характера ферментации ингредиентов среды (лактоза, глюкоза, маннит и др.) различными представителями бактерий кишечной группы наблюдается различное окрашивание среды. При отсутствии на чашке подозрительных колоний дается отрицательный ответ.

Третий день исследования

Изучение выделенных культур начинают с учета их ферментативной активности. Если все культуры от данного обследуемого сбраживают лактозу и глюкозу с газообразованием то, дается отрицательный ответ. Неподвижные культуры, не разлагающие лактозу и мочевины, и разлагающие ферментирующую глюкозу до кислоты без газа являются подозрительными на дизентерийную группу и подвергаются дальнейшему изучению. Культуры неподвижных грамотрицательных бактерий, ферментирующих глюкозу без газообразования, испытывают в опыте агглютинации на стекле с набором дизентерийных адсорбированных сывороток. Материалом для агглютинации является рост культуры на среде с мочевиной или на скошенном агаре. Вести испытание культур в реакции агглютинации на стекле рекомендуется сначала со смесью сывороток преобладающих видов (Флекснера, Зонне), а при наличии агглютинации со смесью сывороток – испытывают культуру отдельно с каждой из сывороток, входящих в данную смесь. Положительная реакция на стекле с типоспецифическими сыворотками является только ориентировочной, в связи с чем необходимо поставить развернутую реакцию агглютинации в пробирках до титра сыворотки указанного на этикетке, начиная с разведения 1:100 и физиологическом растворе. Контролем служат две пробирки: одна содержит взвесь микробов в физиологическом растворе (без сыворотки), другая – сыворотку в наименьшем разведении (без микробных тел). Все пробирки помещают в термостат при 37 °С до следующего дня.

Четвертый день исследования

Отмечают изменения во всех углеводных средах, образование индола, сероводорода, учитывается подвижность, каталазная проба. В этот же день учитывают результаты пробирочной реакции агглютинации. Основание для выдачи положительного ответа является обнаружение неподвижной грамотрицательной палочки, не сбраживающей лактозу и не образующей сероводород, ферментирующей глюкозу до кислоты. При этом обязательно указывают вид и тип выделенного штамма.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Микробиологический диагноз дизентерии.
 - А. Познакомиться с классификацией шигелл, а также со схемой исследования при дизентерии.
 - Б. Изучить характер роста шигелл на средах Левина, Плоскирева, Олькеницкого.
 - В. Знать ход исследования испражнений при диагностике дизентерии:
 - а) 1-й день – сделать посев на среды Левина и Плоскирева;
 - б) 2-й день – изучить посеvy на чашках, отобрать изолированные колонии, посеять на среду Ресселя или Клиглера;
 - в) изучить биохимическую активность культуры на среде Ресселя;
 - г) поставить ориентировочные реакции агглютинации со специфическими монорецепторными дизентерийными сыворотками;
 - д) полученные данные занести в протокол.
 2. Серологическая диагностика дизентерии:
 - а) изучить серологический метод исследования при дизентерии;
 - б) полученные данные занести в протокол.
- Выполненную работу и полученные результаты оформить в виде протокола по схеме:



Дата	Что сделано	Результаты исследования
1-й день	Посев исследуемого материала	
2-й день	Бактериологическое исследование Серологическое исследование	
3-й день		

ХОЛЕРА

Холера – это острая антропонозная карантинная кишечная инфекция. Высокая заразительность приводит к развитию эпидемии и пандемии. Для их предотвращения проводят специальные санэпидемиологические мероприятия, устанавливают особый режим в очаге. Для холеры характерен тяжелый обезвоживающий понос с испражнениями в виде рисового отвара и нарушением водно-солевого обмена.

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа холеры.

Знать:

- основных возбудителей холеры;
- биологию возбудителей;
- эпидемиологию заболевания;
- лабораторную диагностику;
- профилактику и терапию заболевания.

Уметь:

- оценить полученные лабораторные данные.

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя холеры	<ol style="list-style-type: none">1. <u>Таксономическое положение:</u> Семейство Vibrionaceae, род Vibrio, вид V.cholera, V.eltor2. <u>Морфологические свойства:</u> Изогнутые палочки в виде запятой, подвижные.3. <u>Тинкториальные свойства:</u> Гр- палочки.4. <u>Тип дыхания:</u> аэробы.5. <u>Элективные питательные среды:</u><ol style="list-style-type: none">а) щелочной агар;б) щелочная пептонная вода;6. <u>Культуральные свойства.</u> Рост на щелочном агаре через 12 часов в виде голубоватых колоний, рост в пептонной воде через 5 часов в виде пленки.7. <u>Биохимические свойства:</u> Оксидаза +, глюкоза К, разжижает желатин, на средах триады Хейберга (маннит К, сахарозаК, арабиноза -) относится к 1 группе.8. <u>Антигенные свойства:</u> Групповой 0-соматический, общий для вида – Н жгутиковый антиген.9. <u>Определение серогруппы по 0-антигену.</u> Возбудитель относится к 01 серогруппе.10. <u>Серовары холерного вибриона:</u> Инаба, Огава, Гикошима.11. <u>Биовары холеровибриона:</u><ol style="list-style-type: none">а) классический;б) Эль-Тор.12. <u>Факторы вирулентности:</u> <i>Экзотоксин (холероген)</i> вызывает нарушения водно-солевого обмена,



	<p>цитотоксическое действие, вызывающее гибель эпителия тонкой кишки. Эндотоксин – угнетение фагоцитоза, понижение кровяного давления; инфекционно-токсические явления Пили – адгезия к клеткам слизистой Фибринолизин, гиалуронидаза – ферменты агрессии.</p>
Эпидемиология, патогенез	<p><u>Источник инфекции</u> – больной человек, носитель и реконвалесцент. <u>Пути заражения</u>: водный, алиментарный, контактно-бытовой. <u>Клинические варианты болезни</u>: 1) энтерит; 2) гастроэнтерит; 3) алгид (полное обезвоживание).</p>
Микробиологическая диагностика	<p><u>Основные методы диагностики</u> 1. Бактериологическое исследование в лаборатории особо опасных инфекций (36 часов). 2. Иммуноиндикация – РИФ. 3. Генетические методы ДНК – зондирование. 4. Серологическое исследование – р. агглютинации, лизиса – ретроспективная диагностика. При подозрении на холеру от больного берут фекалии и рвотные массы. Из объектов окружающей среды обследуют воду и остатки пищи. <u>1 этап</u> – первичный посев в пептонную воду и на щелочной агар. <u>2 этап</u> – просмотр роста в пептонной воде (через 8 часов). При наличии пленки – микроскопия мазка по Граму и фазово-контрастная микроскопия препарата «висячей капли» (для оценки подвижности). Ориентировочная реакция агглютинации с 01-холерной сывороткой – выдача ориентировочного ответа. Если роста нет – повторный высев в щелочную пептонную воду – просмотр посева на щелочном агаре (через 12 часов). Отбор подозрительных колоний, микроскопия мазка по Граму, тест на оксидазу, реакция агглютинации с 01-холерной сывороткой, накопление чистой культуры. Если нет роста на щелочном агаре и в пептонной воде после повторного пересева или отрицательная реакция агглютинации с 01-холерной сывороткой, выдается отрицательный ответ. <u>3 этап</u> – проверка чистоты накопленной культуры, постановка биохимических тестов и пробы с фагами, полимиксином, тест на гемолизин. <u>4 этап</u> – окончательный учет результатов, постановка реакции агглютинации с сыворотками Инаба, Огава. Выдача окончательного ответа.</p>

Полная схема идентификации включает дополнительно тесты на определение биоваров: геммагглютинации, чувствительности к лимиксину, гемолиза по Грейгу, реакции Фогеса-Проскауэра. Для подтверждения принадлежности холерных вибрионов к серогруппе 0139 достаточно положительного результата в слайд-агглютинации.



Культуры, имеющие признаки вибрионов по морфологии, тесту на индофенолоксидазу и ферментативной активности на полиуглеводной среде, не агглютинирующиеся на стекле холерными сыворотками 01 и 0139 серогрупп, выделенные от больных острыми кишечными инфекциями, изучают по тестам, определяющим принадлежность к роду *Vibrio* и виду *V. cholerae* и в пробе с диагностическими фагами.

Через 36-48 ч от начала исследования учитывают результаты идентификации и выдают окончательный ответ о выделении культуры холерного вибриона соответствующей серогруппы. На культуры, имеющие характерные для вибрионов морфологические и культуральные признаки, относящиеся к первой группе по Хейбергу (манноза +, сахароза +, арабиноза -), агглютинирующиеся сывороткой серогруппы 01 и вариантспецифическими сыворотками (Инаба, Огава) не менее чем до 1/2 титра, лизирующихся и нелизирующихся холерным и эльтор-фагами, а также на культуры, агглютинирующиеся сывороткой 0139, выдают окончательный ответ. Для холерных вибрионов 01 серогруппы указывают биовар на основании чувствительности к одному из диагностических фагов (эльтор или холеры) и (или) по дополнительным признакам для фагорезистентных культур. Культуры холерных вибрионов 01 и 0139 изучают по гемолитической активности в пробе Грейга и чувствительности к антибиотикам, используемым в клинической практике для лечения холеры. Токсигенные штаммы холерных вибрионов 01 и 0139 серогрупп не лизируют эритроциты барана, в отличие от гемолизопозитивных нетоксигенных штаммов.

Дифференциация биоваров *V.cholerae* 01

Признаки	Биовары <i>V.cholerae</i> 01	
	eltor	cholerae
Лизабельность монофагами: eltorcholerae	+	-
Чувствительность к 30 Емл полимиксина	-(+)	+
Образование ацетилметилкарбинола	+-	-

Методы ускоренной диагностики

Метод флюоресцирующих антител. Для выявления холерных вибрионов серогруппы 01 применяют прямой метод в соответствии с «Наставлением по применению сыворотки холерной люминесцирующей». Для выявления холерных вибрионов серогруппы, 0139 используют непрямой МФА.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА). Используется для выявления холерных вибрионов по методике, изложенной в «Наставлении по применению диагностикума холерного эритроцитарного антительного».

Реакция объемной агглютинации (РОЛ). Для обнаружения холерных вибрионов реакция ставится по типу РНГА в соответствии с наставлением по применению холерного иммуноглобулинового диагностикума на основе полимерных микросфер.

Метод иммобилизации вибрионов специфической холерной O - сывороткой. На предметное стекло наносят по одной капле испражнений, рвотных масс или верхнего слоя пептонной воды. Первую каплю накрывают покровным стеклом (контроль), ко второй добавляют каплю 01 сыворотки в разведении 1:100, перемешивают и также накрывают стеклом. Раздавленную каплю смотрят под микроскопом при увеличении 400-600х, используя фазово-контрастное устройство или конденсор темного поля. При наличии в исследуемом образце холерных вибрионов в первой капле наблюдают характерную подвижность, во второй - иммобилизацию отдельных микробных клеток и образование микроагглютинатов немедленно или в течение 1-2 мин.

Иммунологические исследования

Данные методы исследований имеют дополнительное значение, и лишь в отдельных случаях результаты их могут быть решающими в ретроспективной диагностике заболеваний. Для этиологической диагностики используют иммунологические реакции, выявляющие в сыворотке больных, переболевших, вибрионосителей, вакцинированных специфические антитела:

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 177 -</p>
--	---	---	----------------

агглютинины, вибриоцидины, антитоксины. У больных холерой на 5-7-й день заболевания появляются агглютинины и вибриоцидные антитела в высоких титрах. Титры антитоксинов нарастают медленнее. Исследуют парные сыворотки.

Определение агглютининов методом развернутой реакции агглютинации. Исследуемую сыворотку разводят 1% пептонной водой (рН 7,5) в объеме 1 мл от 1:30 до 1:640, в качестве антигена используют 3-часовую бульонную культуру. В пробирки с раститрованной сывороткой вносят по 1 капле культуры-антигена и ставят на час в термостат, затем до утра в холодильник при 40,5 °С, после чего отмечают результаты. Реакция сопровождается контролями антигена и сыворотки. Результат в разведении 1:40 и выше считается ориентировочно положительным. Диагностическое значение имеет 4-кратное нарастание титра антител.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) с антигенным холерным эритроцитарным диагностикумом. Ставится по методике, изложенной в наставлении к препарату.

Реакция нейтрализации антигена (РНАг) для выявления антител с использованием холерного иммуноглобулинового эритроцитарного диагностикума. Методика ее постановки изложена в наставлении к диагностикуму. Диагностическое значение имеет не менее чем 4-кратное нарастание титров антител при исследовании парных сывороток в РИГА и РНАг.

Определение вибриоцидных антител в сыворотке крови (РВА). Принцип метода во всех его вариантах заключается в том, что в присутствии вибриоцидных антител не происходит размножения холерных вибрионов.

РИГА с эритроцитарным холерным энтеротоксическим диагностикумом. Предназначена для определения в сыворотке больных холерой, вибрионосителей и привитых холерогенанатоксином антител, нейтрализующих холерный токсин. Токсиннейтрализующие антитела появляются на 5-6-й день болезни, достигают максимума на 14-21 день. Диагностическим титром следует считать 1:160. Этой реакцией можно также выявлять токсиннейтрализующие антитела в сыворотке крови больных и вибрионосителей, у которых инфицирование обусловлено холерными вибрионами серогруппы 0139.

Для этиотропной терапии используют антибиотики.

Специфическая профилактика не разработана.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Классификация вибрионов.
2. Биология возбудителей.
3. Патогенез холеры.
4. Методы лабораторной диагностики холеры.
5. Бактериологический метод исследования холеры.
6. Ускоренная диагностика холеры.
7. Лечение и профилактика холеры.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомиться со схемой исследования при диагностике холеры.
2. Познакомиться с подготовкой материала к отправке в лабораторию (демонстрация).
3. Выписать направления для исследования испражнений.
4. Изучить ход исследования испражнений на наличие холерных вибрионов:
 - а) познакомиться с ускоренной диагностикой холеры;
 - б) познакомиться с методом иммобилизации и микроагглютинации, посмотреть демонстрационные препараты под микроскопом;
 - в) сделать посев испражнений на первую пептонную воду и щелочной агар.
5. Изучить дальнейший ход исследования испражнений:
 - а) приготовить мазки из колоний на щелочном агаре, окраска по Граму;
 - б) изучить подвижность микробов из колоний в раздавленной капле;



- в) сделать посев культуры в пробирки с лактозо-сахарозной средой;
г) поставить агглютинацию с О-сывороткой.
6. Познакомиться с идентификацией выделенной чистой культуры (демонстрация):
- а) рост на лактозо-сахарной среде;
б) проба на диастазу;
в) развернутая реакция агглютинации с О-холерной сывороткой;
г) биохимические свойства (среды Гисса);
д) нитрозо-индоловая реакция;
е) гемолиз;
ж) учесть результаты пробы с диагностическим холерофагом.
7. Познакомиться с препаратами, применяемыми для диагностики, лечения и профилактики холеры.

Выполненную работу и полученные результаты оформить в виде протокола по схеме:

Протокол бактериологического исследования

Материал для исследования:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

Этапы исследования	Ход исследования	Результаты исследования с предварительными выводами

ЭШЕРИХИОЗЫ

Группа инфекционных заболеваний, вызываемых микроорганизмами рода *Escherichia*. При эшерихиозах наблюдается диарея с выраженным болевым синдромом.

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа эшерихиоза.

Знать:

- возбудителей эшерихиозов;
- биологию возбудителей;
- эпидемиологию возбудителей;
- лабораторную диагностику.

Уметь:

- интерпретировать полученные результаты бактериологического анализа эшерихиозов;
- оценить результаты антибиотикограмм;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии заболеваний.

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	Таксономическое положение 1. <u>Таксономическое положение.</u> Семейство Enterobacteriaceae, род <i>Escherichiae</i> 2. <u>Морфологические свойства:</u> Гр-палочки. Подвижны. 3. <u>Тип дыхания:</u> факультативные аэробы.



	<p>4. <u>Культураутные свойства:</u> элективные питательные среды - Эндо, Плоскирева.</p> <p>5. <u>Биохимические свойства:</u> оксидаз отрицательны, активно ферментируют углеводы с образованием К и Г индол + сероводород -</p> <p>6. <u>Антигенное строение:</u> О – Ag - более 170 вариантов; К – Ag - более 100 вариантов; Н – Ag - около 60 вариантов.</p>
Патогенез	<p>Возбудителями являются четыре группы E. coli</p> <ol style="list-style-type: none">1) энтеротоксигенные (ЭТКП)2) энтероинвазивные (ЭИКП)3) энтеропатогенные (ЭПКП)4) энтерогеморрагические (ЭГКП)
Лабораторная диагностика	<p>Основной метод диагностики - <i>бактериологический</i>:</p> <ol style="list-style-type: none">1) посев на дифференциально-диагностические среды;2) выделение чистой культуры;3) биохимическая идентификация;4) сероидентификация. <p>Определение принадлежности к серогруппам позволяет отличить условно-патогенные от диареогенных.</p> <p>Внутривидовая идентификация, имеющая эпидемиологическое значение, заключается в определении серовара с помощью диагностических адсорбированных иммунных сывороток.</p>

Специфическая профилактика не разработана.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Биология возбудителя фнпечных эшерихиозов.
2. Эпидемиология, патогенез, клиника.
3. Микробиологическая диагностика.
4. Специфическое лечение и профилактика.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Используя демонстрационный материал, провести 2-й и 3-й этапы бактериологического исследования испражнений для выделения возбудителя кишечного эшерихиоза.
2. Оценить результаты посева испражнений на среду Эндо. Результат записать в протокол.
3. Поставить РА с поливалентной ОК - сывороткой.
4. Используя демонстрацию, оценить результаты посева агглютинирующихся ОК - сывороткой, лактозоположительных колоний на среде Клиглера.
5. Определить серогруппу выделенной на среде Клиглера культуры диареогенной кишечной палочки.

Протокол бактериологического исследования

Материал для исследования:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

Этапы исследования	Ход исследования	Результаты исследования с предварительными выводами
--------------------	------------------	---



ПИЩЕВЫЕ ТОКСИКОИНФЕКЦИИ И ТОКСИКОЗЫ

Пищевые отравления микробной этиологии по патогенетическому признаку подразделяются на пищевые, токсикоинфекции и пищевые токсикозы.

Возбудителями пищевых токсикоинфекций могут быть сальмонеллы, представители семейств *Enterobacteriaceae* (рода: *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Proteus* и др.), *Vibrionaceae* (род *Vibrio*), *Aeromonadaceae* (род *Aeromonas*), *Bacillaceae* (род *Bacillus*), *Clostridiaceae* (род *Clostridium*), *Enterococcaceae* (род *Enterococcus*).

Пищевые токсикозы вызывают *Clostridium botulinum* (ботулизм) и штаммы *Staphylococcus aureus*, продуцирующие энтеротоксины.

Патогенез пищевых токсикоинфекций обусловлен одновременным попаданием в организм и микроорганизмов-возбудителей, и их токсинов, накопившихся в пищевом продукте, поскольку особенностью этих возбудителей является способность продуцировать экзо-и эндотоксины (в результате разрушения микробных клеток) не только в организме человека, но и в пищевых продуктах.

Клинически они характеризуются симптомами гастроэнтерита и нарушением водно-солевого обмена.


Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа пищевых токсикоинфекций и токсикозов.

Знать:

- возбудителей токсикоинфекций и интоксикаций;
- биологию возбудителей;
- эпидемиологию заболевания;
- методы лабораторной диагностики;
- профилактику.

КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ: ВОЗБУДИТЕЛЬ БОТУЛИЗМА, ВОЗБУДИТЕЛЬ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Раздел	Таксономическое положение
Биология возбудителя	Возбудитель <i>S. aureus</i> См. гнойно-септический раздел
Эпидемиология	Заболевание связано с приемом пищи, зараженной <i>S. aureus</i> , образующих энтеротоксин. Основным местом в природе, где поддерживается стафилококк как вид, является человек, его слизистые оболочки и кожные покровы. Наиболее частыми факторами передачи инфекции являются заварные кремы, пирожное и др. кондитерские изделия, мороженое, молоко, реже мясо, колбаса, ветчина. Заражение через пищевой продукт возможно только при его хранении после загрязнения при температуре 15-35°C. Установлено, что при такой температуре эндотоксин образуется уже через 4-5 часов.
Клиника	Короткий инкубационный период (2-4 часа). Боли под ложечкой, обильная частая рвота, понос. В тяжелых случаях - цианоз, судороги икроножных мышц.
Иммунитет	Обусловлен как гуморальными, так и клеточными факторами.
Лабораторная	Серологические методы, цель которых заключается в обнаружении в

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 181 -</p>
--	---	---	----------------

диагностика	материалах от больного (рвотные массы) и пищевых продуктах энтеротоксина.
-------------	---

БОТУЛИЗМ

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	Возбудителем ботулизма является <i>Clostridium botulinum</i> . <i>C. botulinum</i> представляет подвижную спорообразующую палочку субтерминальным расположением споры. Строгий ага-эроб. Продуцирует сильный экзотоксин (смертельная доза для человека 0,3 мкг). По антигенной структуре выделяем его ток-сина. <i>C. botulinum</i> подразделяется на 7 сероваров: А, В, С, D, Е, F. Для человека наиболее патогенны серовары А, В, Е.
Эпидемиология	Ботулизм является типичной токсикоинфекцией. Возбудитель широко распространен в природе. Он обнаружен в почве, навозе, фруктах, овощах, рыбе и консервах. Он содержится в экстрементах теплокровных животных и человека. Ботулизм связан с употреблением продуктов, приготовленных дома без соблюдения правил санитарной обработки. Микроорганизмы при благоприятных условиях (анаэробные) образуют токсин.
Клиника	Типичная токсикоинфекция. Инкубационный период длится всего до 36 часов.
Иммунитет	Развивается антибактериальный и антитоксический иммунитет.
Лабораторная диагностика и лечение	Основная цель микробиологической диагностики ботулизма заключается в выявлении ботулотоксина и определении его серовара в материалах, взятых от больного (кровь, промывные воды желудка), а также пищевых продуктах. Ботулотоксин выявляется в реакции нейтрализации на мышах, а также методами серологического исследования: РНГА, ИФА, реакции преципитации.

Для **лечения** ботулизма обязательно используют антитоксическую противоботулинистическую сыворотку.

Специфическая профилактика применяется в виде анатоксинов, входящих в состав секстаанатоксина в комбинации с брюшнотифозной вакциной.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Биология возбудителей пищевых токсикозов.
2. Эпидемиология, патогенез, клиника.
3. Микробиологическая диагностика.
4. Специфическое лечение и профилактика.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Микроскопия препаратов *S. aureus* и *C. botulinum*.
2. Методом РНГА по схеме, изложенной в таблице определить наличие ботулотоксина и его серовар в промывных водах желудка больного.

№ лунок ингредиенты	1	2	3	4	5	6	7
Физиологический раствор	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Исследуемый материал 1:5	0,2	-	-	-	-	-	-
Разведение исследуемого материала	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	К



Эритроцитарный диагностикум	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Результаты: Диагностикумы: Поливалентный							
К серовару А							
К серовару В							
К серовару Е							

САЛЬМОНЕЛЛЕЗ

Род получил название по имени Сальмоне, который в 1885 г. описал микроб, выделенный из свиньи.

Сальмонеллез – острая инфекционная болезнь животных и человека, вызываемая бактериями рода *Salmonellae*, передающаяся в большинстве случаев через пищевые продукты и характеризующаяся преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта.

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа сальмонеллеза.

Знать:

- возбудителей сальмонеллеза;
- биологию возбудителей;
- эпидемиологию заболевания;
- лабораторную диагностику;
- профилактику сальмонеллеза.

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	Таксономическое положение Семейство – Enterobacteriaceae, род – Salmonella. 1. <u>Морфологические свойства:</u> палочки, перетрихи. 2. <u>Тинкториальные свойства:</u> Гр- тип дыхания. 3. <u>Элективные питательные среды:</u> Эндо, Плоскирева, желчный бульон. 4. <u>Культуральные свойства:</u> температурный оптимум роста 35-37°C, через 24 часа роста образуют мелкие прозрачные колонии S, иногда R формы. 5. <u>Биохимические свойства:</u> не способны ферментировать адонит, лактозу, сахарозу, салицин, не расщепляют мочевины и не продуцируют индал, но образуют сероводород. 6. <u>Антигенная структура:</u> О-Ag - термостабильный, H-Ag - термостабильный. По О антигену сальмонеллы делятся на серологические группы, а по H - на серовары. Один из компонентов антигенной структуры - Vi антиген, или антиген вирулентности.

Принципы терапии пищевых токсикоинфекций:

- легкие формы лечат средствами патогенетической терапии, восстанавливающими водно-солевой баланс;
- при тяжелых формах назначают этиотропную терапию – антибиотики.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Сальмонеллы - возбудители сальмонеллезозов.
2. Патогенез, роль энтеро и эндотоксинов в возникновении диарейного синдрома.



3. Методы лабораторной диагностики сальмонеллезов.
4. Лечение и профилактика сальмонеллезов.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Произвести посев исследуемого материала на среду Плоскирева.
2. Изучить выросшие подозрительные колонии.
3. Сделать мазки из подозрительных колоний и окрасить их по Граму.
4. Изучить биохимическую активность на среде Олькеницкого.
5. Поставить ориентировочную реакцию агглютинации с сыворотками А, В, С, Д групп.
6. Поставить биологическую пробу (заражение белой мыши *res os*).
7. Полученные данные занести в протокол.

Протокол бактериологического исследования

Материал для исследования:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

Этапы исследования	Ход исследования	Результаты исследования с предварительными выводами

Биохимические свойства. Обладают выраженной биохимической активностью. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации:

- ферментация глюкозы до кислоты и газа (*S. Typhi* не продуцируют газ);
- отсутствие ферментации лактозы;
- продукция сероводорода (за исключением *S. Paratyphi A*);
- отсутствие индолообразования;
- декарбокислирование лизина (за исключением *S. Paratyphi A*);
- отсутствие расщепления мочевины;
- отрицательный тест Фогеса-Проскауэра

Антигенная структура и классификация. Сальмонеллы обладают соматическим О-антигеном, жгутиковым Н-антигеном. Некоторые сальмонеллы обладают К-антигеном. В связи с тем, что по основным биохимическим свойствам представители рода *Salmonella* однотипны, дифференциация внутри рода проводится по антигенной структуре.


Средами обогащения при посеве крови являются:

- триптозосоевый бульон;
- бульон с сердечно-мозговой вытяжкой;
- желчный бульон;
- селенитовый бульон;
- тетратионаовый бульон;
- среда Раппопорт.

На лактозосодержащих дифференциальных средах образуют бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре – колонии черного цвета, на среде *BGA* – розовые колонии.

В настоящее время род *Salmonella* состоит из двух видов: *S. enterica* и *S. bongori*.

S. enterica состоит из 6 подвидов: *enterica*, *palamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *hoitanae*, *indica*. В него включены все сальмонеллы, являющиеся возбудителями человека и теплокровных животных. Имена сероваров подвида *enterica* пишутся с прописной буквы, они соответствуют прежним видовым названиям, например *S. typhi* - *S. Typhi*. Вид *S. bongori*

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 184 -</p>
--	---	---	----------------

подразделяется на 21 серовар и включает в себя сальмонеллы, изолированные из холоднокровных животных.

Некоторые серовары сальмонелл, в частности *S. Typhi*, имеют полисахаридный Vi-антиген, являющийся разновидностью К-антигена. Vi-антиген по химической структуре является полимером.

Факторы патогенности сальмонелл. Вид *S. enterica* является факультативным внутриклеточным паразитом, способным инвазировать нефагоцитирующие клетки эпителия слизистой оболочки кишечника и размножаться в макрофагах. Это связано с тем, что в отличие от вида *S. bongori*, вид *S. enterica* имеет в геноме 6 так называемых островков патогенности (*pathogenicity island*) SPI, детерминирующих синтез факторов патогенности. Все сальмонеллы обладают эндотоксином, который вызывает в случае бактериемии развитие лихорадки. При достижении критической концентрации в тканях кишечника эндотоксин активирует каскад арахидоновой кислоты, в результате чего увеличивается синтез простагландинов, и как следствие повышается уровень цАМФ, приводящий к нарушению водно-солевого баланса кишечника и развитию диареи.

Вызываемые заболевания. В зависимости от источника инфекции, путей передачи, особенностей патогенеза и форм проявления инфекционного процесса среди заболеваний, вызываемых сальмонеллами, различают системные инфекции (брюшной тиф и паратифы), сальмонеллезные гастроэнтериты и госпитальный (нозокомиальный) сальмонеллез.

Возбудители брюшного тифа и паратифов

Брюшной тиф - острое антропонозное инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи. Протекает в генерализованной форме с поражением лимфатического аппарата кишечника, мезентериальных лимфоузлов, паренхиматозных органов, с бактериемией. Характеризуется циклическим течением. Клинически проявляется выраженной интоксикацией с лихорадкой, развитием гепатолиенального синдрома, в ряде случаев розео-лезной сыпью и энтеритом.

Название болезни введено Гиппократом, оно происходит от греческого слова *typhos* (туман, спутанное сознание).

Этиология. Возбудителем брюшного тифа является *S. Typhi*. Впервые возбудитель заболевания обнаружили в органах умерших полей Т. Брович (1874), Н.И. Соколов (1876) в России и К. Эберт (1880) в Германии. В 1884 г. Т. Гаффки выделил возбудитель в чистой культуре. Возбудителями паратифов являются *S. Paratyphi A*.

Биохимические свойства в основном типичны для рода *Salmonella*. Отличительными особенностями являются: отсутствие газообразования при ферментации *S. Typhi*, неспособность *S. Paratyphi A* продуцировать сероводород и декарбоксилировать лизин.

Возбудители брюшного тифа и паратифов являются сероварами подвида *enteric*, обладающими следующей антигенной структурой: *S. Typhi* O: 9, 12 Vi, H: d, *S. Paratyphi A* O: 1, 2, 12, H: a (1,5); *S. Paratyphi B* O: 1,4 (5) 12, H: b, 1, 2, *S. Paratyphi C*: O: 6, 7 (Vi) H: c, 1,5. *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* имеют полисахаридный Vi-антиген.


Эпидемиология, патогенез заболеваний

Источник инфекции – человек, больной, бактерионоситель, реконвалесцент.

Путь передачи - алиментарный, контактный и водный.

Патогенез:

1. Пищеварительная (дигестивная) стадия - микробы в кишечнике.
2. Стадия инвазии - размножение микробов в лимфатических узлах стенки тонкой кишки и брыжейки - это инкубационный и продромальный периоды.
3. Стадия бактериемии - микробы попадают из лимфоузлов в кровь, но не

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 185 -</p>
--	---	---	----------------

размножаются - совпадает с началом болезни и соответствует 1 неделе (высокая температура, головная боль, боли в животе снизу справа, сыпь, увеличение печени и селезенки).

4. Стадия паренхиматозной диффузии - захват микробов из крови фагоцитами.
5. Аллергически-выделительная стадия - сопровождается рецидивом болезни и образованием язв на месте некротизированных лимфатических образований, т.е. пейеровых бляшек.
6. Исход (выздоровление, бактерионосительство, смерть).

Диагностика брюшного тифа и паратифов

Учитывая развитие инфекционного процесса при брюшном тифе и паратифах, возбудитель выделяют:

- на I неделе - из крови (гемокультура)
- с конца 2, 3 недели - из испражнений (копрокультура)
- с конца 2 недели - из мочи (уринокультура)
- из желчи - начиная со 2-ой недели заболевания, в течение всего периода заболевания.

Начиная со 2-ой недели заболевания параллельно проводится серологическое исследование сыворотки крови.

Забор крови для получения гемокультуры


1. Кровь для посева подвергают исследованию при подъеме температуры у больного в начале озноба.
2. Объем крови составляет 5-10 мл, берут из локтевой вены.
3. Посев рекомендуется производить непосредственно после взятия в 50-100 мл среды обогащения в колбу объемом 250 мл.
4. При невозможности проведения посева, сразу после забора крови, помещают в стерильную пробирку, содержащую антикоагулянт и транспонируют в лабораторию. Хранить материал можно не более 2 часов в холодильнике при +4°C.

Для получения копрокультуры у больных забирают испражнения:

1. Посев для выделения сальмонелл производят из жидкой части испражнений.
2. Посев фекалий можно производить прямым способом - на среды обогащения и плотные; при этом небольшое количество испражнений размешивают в физиологическом растворе. Оставляют на 30 минут для оседания крупных частиц. С поверхности берут одну каплю материала, которую засевают на дифференциально-диагностические среды для выделения сальмонелл (агар Плоскирева, висмут-сульфитный агар).

Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов

С 8-го дня заболевания в крови у больных брюшным тифом можно обнаружить агглютинины. Для постановки реакции агглютинации необходимо иметь сыворотку больного и диагностикумы – взвеси убитых бактерий брюшного тифа, паратифы А и В (реакция Видаля). У больного из вены берут в пробирку 1-2 мл крови. Для ускорения свертывания крови пробирку ставят на 30 минут в термостат. Затем свернувшуюся кровь некоторое время дают отстояться на холоде, далее осторожно отделяют сгусток обожженной петлей от стенок пробирки, после чего сыворотку отсасывают. Кровь для получения сыворотки можно взять и посредством укола мякоти безымянного пальца. Из сыворотки с помощью физиологического раствора готовят три ряда разведений: 1:100, 1:200, 1:400, 1:600 каждое в объеме 1 мл. Затем в пробирки с разведенной сывороткой добавляют по 1-2 капли диагностикумов тифа и паратифа А и В. Для контроля реакции в конце каждого ряда помещают пробирку, в которой смешивают по 1 мл физиологического раствора и по 1-2 капле соответствующих диагностикумов. Пробирки ставят на 2 часа

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 186 -</p>
--	---	---	----------------

в термостат, после чего учитывают предварительный результат реакции. Окончательный результат отмечают на второй день после стояния пробирок в условиях комнатной температуры. Реакция считается положительной при наличии агглютинации в разведении сыворотки не менее чем 1:200.

Реакция Видалья может дать положительный результат не только у больных, но и у лиц, до того перенесших брюшной тиф («анамнестический Видаль»). Кроме того, положительная реакция иногда является результатом проведенных ранее прививок («прививочный Видаль»). «Анамнестический» и «прививочный Видаль» отличают от инфекционного следующим образом. Реакцию Видалья ставят повторно на протяжении болезни. В случае заболевания брюшным тифом с каждым днем происходит нарастание титра антител, то есть положительная реакция отмечается все в больших разведениях сыворотки. Этого не наблюдается при «анамнестическом» или «прививочном Видале».

Для **этиотропного лечения** используют антибиотики или другие химиотерапевтические препараты.

Специфическая профилактика тифо-паратифозного заболевания проводится убитыми и химическими вакцинами по эпидемическим показаниям, контактными лицам - экстренная фагопрофилактика сальмонеллезными поливалентными бактериофагами.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Классификация и общая характеристика семейства энтеробактерий.
2. Патогенез брюшного тифа и паратифа А и В.
3. Методы лабораторной диагностики брюшного тифа и паратифа А и В в различные сроки заболевания.
4. Бактериологический метод исследования брюшного тифа и паратифа А и В в разные стадии патогенеза заболевания.
5. Выявление бактерионосительства при брюшном тифе.
6. Серологический метод диагностики брюшного тифа и паратифа А и В.
7. Лечение и профилактика брюшного тифа и паратифа А и В.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологическое исследование крови брюшнотифозного больного на гемокультуру:

1. Произвести посев исследуемого материала на среду Рапопорт.
2. Изучить изменение цвета среды (помутнение; наличие пузырьков газа в поплавке).
3. Пересеять на среду Эндо.
4. Занести полученные данные в протокол.
5. Изучить различия колоний на среде Эндо. Отобрать подозрительные колонии и произвести посев для накопления чистой культуры. Описать культуральные свойства.
6. Исследовать чистую культуру по морфологическим, тинкториальным, биохимическим, антигенным свойствам. Полученные данные занести в протокол.
7. Идентифицировать чистую культуру возбудителя.

Серологическая диагностика брюшного тифа

1. Учесть результаты реакции Видалья.
2. Полученные данные занести в протокол.

Протокол бактериологического исследования

Материал для исследования:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

Этапы исследования	Ход исследования	Результаты исследования с предварительными выводами
--------------------	------------------	---



Лечение и профилактика кишечных инфекций

Лечение:

- антибиотики;
- сульфаниламиды и др. химиопрепараты;
- специфические бактериофаги;
- биологические бак. препараты:
- колибактерии;
- бифидумбактерии;
- лактобактерии;
- бификол.

Эти препараты содержат живые высушенные микробы, которые есть в норме в кишечнике, а при лечении антибиотиками - они погибают.

Профилактика: неспецифическая. Направлена на повышение общей культуры, санитарной грамотности, закаливание организма, строгий санитарный контроль за предприятиями общественного питания, торговой сетью.

Специфическая профилактика при брюшном тифе - вакцина TABte - брюшнотифозная вакцина (против столбняка, газовой гангрены и ботулизма).

Профилактика холеры: препараты плановой иммунопрофилактики:

- а) для создания активного антибактериального иммунитета – убитые и живые холерные вакцины;
- б) для создания активного антитоксического иммунитета.

Препараты экстренной профилактики: контактным лицам специфическая фагопрофилактика (мало эффективна) и назначение тетрациклина.

ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИЕРСИНИОЗОВ

Раздел	Вопросы для обсуждения
Биология возбудителя	<p>1. Возбудитель кишечных иерсиниозов - <i>Y. enterocolitica</i> -относится к семейству Enterobacteriaceae роду Yersinia.</p> <p>Этот род включает 7 видов, из них патогенный для человека <i>Y.pestis</i> - возбудитель чумы и условно-патогенные <i>Y.pseudotuberculosis</i> – возбудитель псевдотуберкулеза и <i>Y.enterocolitica</i> - возбудитель кишечных иерсиниозов.</p> <p>2. Основные биологические свойства:</p> <ol style="list-style-type: none"> а) морфологические - мелкие палочки, могут образовывать капсулу в организме, б) тинкториальные Гр - в) культуральные - лучше растут в холодных условиях г) биохимические - специфичны для вида д) антигенные О, К и Н-АГ (по О-АГ у <i>Y.enterocolitica</i> - 30 сероваров, у <i>Y.pseudotuberculosis</i> - 10сероваров) е) факторы вирулентности: адгезины, способность к колонизации, устойчивость к фагоцитозу и бактерицидным факторам крови за счет капсулы, эндотоксина и поверхностных белков, кодируемых плазмидами, высокая инвазивность, способность к внутриклеточному размножению в макрофагах лимфатического аппарата и способность проникать в кровь и там размножаться (возникает сепсис).
Эпидемиология, патогенез,	<p><u>Источник инфекции</u> - грызуны</p> <p><u>Путь передачи</u> – алиментарный и водный</p> <p><u>Кишечный иерсиниоз</u> – зоо-антропонозная острая кишечная инфекция.</p>



клиника	<p><u>Фазы патогенеза:</u> а) энтеральная б) регионарная в) генерализованная фаза г) фаза вторичных очаговых и аллергических проявлений. Основные группы клинических симптомов: а) острая кишечная инфекция с клиникой мезентериального лимфаденита б) сепсис и вторичные проявления</p>
Микробиологическая диагностика	<p><u>Методы диагностики:</u> а) экспресс-метод диагностики - <i>иммуноиндикация</i> (использование РИФ и РИФА для обнаружения антигенов возбудителя в материале от больного, материал зависит от фазы патогенеза и клинических проявлений) б) <i>бактериологическое исследование</i>: материал - фекалии, кровь и материал из вторичных очагов. Ход исследования стандартен. Особенность: первичный посев помещают в холодные условия в) <i>серологическое - ретроспективная диагностика - РПГА</i>: ставится с эритроцитарным иерсиниозным диагностикумом и разведениями парных сывороток больного для доказательства инфекционного происхождения выявляемых антител по нарастанию их титра.</p>

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Биология возбудителей кишечного иерсиниоза.
2. Эпидемиология, патогенез, клиника.
3. Микробиологическая диагностика.
4. Специфическое лечение и профилактика.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Определить фаговар выделенного возбудителя из гемокультуры.
2. По результатам посева на «Энтеротест» определить родовую принадлежность выделенного возбудителя. Результат записать в протокол.
3. Микроскопия мазков из культур *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*.
По результатам проведенных исследований поставить диагноз:
а) по результатам биохимической идентификации при помощи энтеротестов I и II определить вид выделенной из фекалий больного иерсинии, результат запротоколировать в таблице:

H ₂ S		Энтеротест 1
Ман		
Лиз. Дк.		
Индол		
Орнитин		
Цитрат		
Уреаза		
Онфг		
Ф-П		
Инозит		
Липаза		
Фенилаланин		
Мал		Энтеротест 2
Адо		



Цел		
Рам		
Аринин		
Сах		
Сор		
Эскул		
Тре		
Дул		
Глю		

б) по результатам РПГА определить титры антител в сыворотке больного иерсиниозом. Определить с каким из примененных эритроцитарных диагностикумов реакция прошла в диагностическом титре. Сделать заключение, результат запрототолировать в таблице:

Тип диагностикума	Титр реакции
Интегральный У. pseudotuberculosis	
У. enterocolitica О ₃	
У. enterocolitica О ₉	

МИКРОБЫ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНОЙ КОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа кокковых инфекций.

Знать:

- основных возбудителей кокковых инфекций;
- патогенетические факторы микроорганизмов;
- методы лабораторной диагностики.

Уметь:

- интерпретировать полученные результаты лабораторного анализа гнойных кокковых заболеваний;
- оценить результаты антибиотикограмм и факторов «персистенции»;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данных болезней.

В группу гноеродных кокков, имеющих значение в инфекционной патологии человека, входят следующие микроорганизмы:

- стафилококки,
- стрептококки,
- пневмококки,
- менингококки,
- гонококки.

По тинкториальному признаку гноеродные кокки распадаются на две подгруппы:

- А. Грамположительные кокки: - стафилококки,
- стрептококки.
- Б. Грамотрицательные кокки: - менингококки,
- гонококки

Общей патогенетической особенностью гноеродных кокков является их способность вызывать воспалительные процессы, сопровождающиеся образованием гноя. Проблема гнойных кокковых инфекций в настоящее время обрела большое значение и стала актуальной во всем мире. Анализ современного состояния вопроса о кокковых инфекциях свидетельствует о том, что патогенные стафилококки играют первенствующую роль в этиологии самых различных заболеваний. Стафилококк - уникальный микроорганизм. Он



может вызывать более 100 раз личных заболеваний, относящихся к одиннадцати классам болезней по Международной классификации 1968 года.

Стафилококки могут поражать любую ткань, любой орган. Это их свойство обусловлено тем, что они располагают большим комплексом факторов патогенности.

СТАФИЛОКОККИ

Цель занятия: овладеть навыками микробиологической диагностики стафилококковых инфекций.

Знать:

- биологию возбудителей;
- эпидемиологию инфекции;
- организацию лабораторной диагностики.

Уметь:

- оценить полученные данные идентификации возбудителей;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии гнойно-воспалительных инфекций, обусловленных стафилококками.

Раздел	Вопросы для обсуждения
Биология возбудителя	<p>I. Таксономия. Возбудители стафилококковых инфекций относятся к семейству Micrococaceae, роду Staphylococcus. Этот род включает в себя более 20 видов, которые подразделяются на две группы – коагулазоположительные и коагулазоотрицательные стафилококки, Наиболее значимыми являются: St aureus, St. epidermidis, St. saprophyticus.</p> <p>II. Основные биологические свойства:</p> <p>1. <u>Морфологические свойства</u> – кокки с диаметром клеток от 0,65-1 мкм, не образующие капсул и спор;</p> <p>2. <u>Тинкториальные свойства</u> – грамположительные кокки;</p> <p>3. <u>Культуральные свойства</u> – факультативные анаэробы. Температурный оптимум +37 °С, но могут расти в пределах температуры от +10 до +48 °С. Оптимальная реакция питательной среды pH = 7,2-7,4. Стафилококки хорошо растут на обычных питательных средах. На бульоне микробы образуют сильную муть и осадок на дне пробирки. Дифференциально-диагностическими средами являются желточно-солевой и молочно-солевой агар. 5–10 %-ная поваренная соль губительно действует на сапрофитные микробы и поэтому на солевом агаре стафилококки хорошо растут при посеве даже загрязненного материала. На молочно-солевом агаре выявляется пигмент из группы каротиноидов – золотистых, кремовых, белых, лимонно-желтых.</p> <p>4. <u>Биохимические свойства:</u> Стафилококки ферментируют (без газа) лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннит, ксилозу, фруктозу, глицерин, быстро сбраживают молоко. При посеве уколом в столбик мясо-пептонной желатины на 2-3 день заметна зона разжижения. Стафилококки выделяют сероводород и не образуют индола, восстанавливают нитраты в нитриты. Каталазоположительные.</p>



	<p>5. Факторы патогенности:</p> <p>А. Факторы адгезии, обусловленные полисахаридами, белком А, способностью связывать фибронектин;</p> <p>Б. Разнообразные ферменты, играющие роль факторов "агрессии и защиты": плазмокоагулаза (главный фактор патогенности), гиалуронидаза, ДНК-аза, лецитиназа, фосфатаза, протеиназа;</p> <p>В. Комплекс секретируемых экзотоксинов:</p> <p>а) мембраноповреждающие токсины:</p> <ul style="list-style-type: none">• гемолизины,• лейкоцидин,• фибринолизин,• летальный токсин,• некротоксин; <p>б) эксфолиативныс токсины;</p> <p>в) экзотоксин, вызывающий синдром токсического шока (СТШ);</p> <p>г) энтеротоксин;</p> <p>Г. Факторы, угнетающие фагоцитоз:</p> <ul style="list-style-type: none">• капсула,• белок А,• пептидогликан,• тейхоевые кислоты. <p>– б. <u>Антигенные свойства:</u> у стафилококков обнаружено более 50 типов антигенов. По специфичности антигены подразделяются на:</p> <ul style="list-style-type: none">– - общие для всего рода <i>Staphylococcus</i>, антигены общие с изоантигенами эритроцитов, кожи и почек человека;– - видовые – типоспецифические антигены. <p>По типоспецифическим антигенам стафилококки разделяются более чем на 30 серовариантов.</p>
Эпидемиология	Стафилококки являются постоянными обитателями кожи и слизистых оболочек; заболевания, вызываемые ими, могут носить характер либо аутоинфекции, либо экзогенной инфекции, обусловленной контактно-бытовым, воздушно-капельным, воздушно-пылевым или алиментарным способами заражения.
Патогенез	Стафилококки легко проникают в организм через мельчайшие повреждения кожи и слизистых оболочек и могут вызвать самые различные заболевания – от юношеских угрей до тяжелейшего перитонита, эндокардита, сепсиса или септикопиемии, при которых летальность достигает 80 %. Стафилококки вызывают фурункулы, гидрадениты, абсцессы, флегмоны, остеомиелиты. Инфицирование стафилококками пищевых продуктов – частая причина пищевых отравлений. Стафилококки – главные виновники сепсиса, в том числе у новорожденных. В отличие от бактериемии (бактерии в крови), которая является симптомом болезни.
Постинфекционный иммунитет	Обусловлен как гуморальными, так и клеточными факторами. Важную роль играют антитоксины, антимикробные антитела, антитела простых ферментов, а также Т-лимфоциты фагоциты.



Для **этиотропной терапии** острых форм гнойно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии используют противостафилококковый гамма-глобулин, стафилококковую плазму, поливалентные стафилококковые бактериофаги, а для иммунотерапии хронических форм – стафилококковый анатоксин, аутовакцины, стафилококковую убитую вакцину ВП-4, стафило-протейно-синегнойную вакцину.

При специфической иммунопрофилактике с помощью стафилококкового анатоксина можно создать активный антитоксический противостафилококковый иммунитет, а с помощью стафилококковой плазмы и противостафилококкового гамма-глобулина – пассивный антитоксический противостафилококковый иммунитет контактными лицам.

Схема лабораторной диагностики гнойных стафилококковых инфекций

Материал	Метод исследования	Результаты
Гной, экссудат, некротические массы	1. Микроскопический 2. Бактериологический Посев на ЖСА, МСА А. Микроскопия мазков из колоний Б. Выделение чистой культуры Установление принадлежности культуры к роду <i>Staphylococcus</i> А. Микроскопический Б. Культуральное определение ферментации глюкозы в анаэробных условиях Видовая идентификация I. Коагулаза Определение признаков патогенности 1. Плазмокоагуляция 2. Лецитиназа 3. Гемолизин 4. Гиалуронидаза 5. ДНК-аза	Гр+кокки Рост пигментированных кокков Гр+кокки Гроздекокки Пигментообразование. Ферментация с образованием кислоты Коагулазоположительные

Идентификация стафилококков

Целью первичной идентификации является установление принадлежности выделенной культуры к семейству *Micrococcaceae* и роду *Staphylococcus*. Для установления принадлежности культур к семейству микрококков используют тест на каталазу.


Отмечают способность представителей семейства микрококков, имеющих фермент каталазу, расщеплять перекись водорода, образуя воду и газообразный кислород.

В отличие от микрококков представители родственного семейства стрептококков каталазы не имеют.

Видовая идентификация стафилококков

Последним этапом исследования является дифференциация *S. aureus* от представителей двух коагулазоотрицательных видов стафилококков. Если установлено, что штамм относится к виду *S. aureus*, проводят его идентификацию.

Идентификация *S. aureus*

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 193 -</p>
--	---	---	----------------

Ориентировочные данные о принадлежности культуры к *Staphylococcus* можно получить при изучении характера колоний, выросших после посева исходного материала на элективную среду (для стафилококков – молочно-желточный солевой агар).

Определение лецитоветиллазы (лецитиназы)

Хлористый натрий является элективным фактором, так как подавляет рост большинства представителей микрофлоры, главным образом, грамотрицательной. Из компонентов яичного желтка – лецитоветиллаза является субстратом для фермента лецитоветиллазы. При расщеплении лецитоветиллина вокруг лецитиназоположительной колонии на поверхности среды образуется радужный венчик. Добавление в среду молока путем сложных химических процессов стимулирует образование стафилококками золотистого или лимонно-желтого пигмента, относящегося к группе каротиноидов.

Как правило, штаммы *S. aureus* обладают лецитиназой и пигментом, а культуры двух других видов лишены их. Возможны, однако, исключения: некоторые штаммы *S. aureus* не имеют пигмента или лецитиназы, а ряд штаммов *S. epidermidis* обладают лецитиназой активностью.

Реакция плазмокоагуляции

Принцип. Под действием фермента плазмокоагулазы активизируется естественная система свертывания крови (плазминогенотромбин).

Приготовление свежей плазмы. Стерильно взятую из сердца кровь кролика в количестве 3 мл вносят в пробирку с 2 мл стерильного 5 % раствора лимоннокислого натрия, смешивают и центрифугируют для осаждения форменных элементов крови в течение 10 минут при 1500 об/мин.

Плазму отсасывают, разводят в 5 раз стерильным физиологическим раствором и разливают в стерильные пробирки по 0,5 мл.

Ход исследования. В пробирку вносят 1 петлю суточной агаровой культуры исследуемого штамма, которую суспензируют в плазме. Штатив с пробиркой помещают в термостат при 37 °С и регистрируют результаты через 1, 2, 4 и 18 часов инкубации.


Оценка результатов. Появление на дне пробирки студнеобразного сгустка любого размера считается положительным результатом реакции. Отсутствие свертывания плазмы в течение 18 часов расценивается как отрицательный результат. В качестве контроля рекомендуется ставить реакцию с заведомо коагулирующим и некоагулирующим штаммами, а также оставлять одну пробирку с плазмой незасеянной.

Окончательная идентификация *S. aureus* требует постановки еще двух тестов. На первом этапе определяют наличие у штаммов плазмокоагулазы. Если после этого штамм идентифицировать не удастся, дополнительно определяют один из двух следующих признаков: наличие ДНК-азы (что предпочтительнее) или способность ферментировать маннит в анаэробных условиях.

При наличии положительного результата в реакции плазмокоагуляции и хотя бы в одном из двух предварительных тестов (пигмент лецитиназа) исследуемый штамм может быть отнесен к виду *S. aureus* (варианты 2-3).

Отсутствие плазмокоагулазы и хотя бы одного из двух первых признаков дает основание считать, что штамм не принадлежит к *S. aureus* (варианты 5-7).

Расхождения между результатами реакции плазмокоагуляции, с одной стороны, и двух предварительных тестов – с другой (варианты 4 и 8), требует постановки одного из двух дополнительных тестов (ДНК-азы или ферментации маннита в анаэробных условиях). В случае совпадения результатов дополнительного теста с результатами реакции плазмокоагуляции штамм считается либо относящимся к виду *S. aureus* при положительных результатах (варианты 4а и 4в), либо не относящимся к нему (при

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 194 -</p>
--	---	---	----------------

отрицательных, варианты 8б и 8г), или отрицательных (принадлежность к другим видам, варианты 4б и 4г) результатов.

Проводить идентификацию *S. aureus* лишь на основании результата одного теста не рекомендуется.

Определение ДНК-азы

Принцип. Под действием ДНК-азы (дезоксирибонуклеазы) добавленная в плотную среду высокополимерная ДНК распадается на низкополимерные фрагменты. При этом мутная, среда становится прозрачной.

Определение ферментации маннита в анаэробных условиях

Определение ферментации глюкозы в анаэробных условиях. Определение проводят аналогичным путем, в качестве субстрата используют 1% раствор маннита.

Идентификация *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*

Те штаммы, которые после исследований, описанных выше, признаны не относящимися к *S. aureus*, подвергаются дальнейшей идентификации для установления их видовой принадлежности.

Дифференциацию *S. epidermidis*; и *S. saprophyticus* рекомендуется проводить в трех тестах:

- 1) определение устойчивости к новобиоцину;
- 2) наличие фосфатазы;
- 3) способность окислять маннит.


Для штаммов *S. epidermidis* характерны: чувствительность к новобиоцину, наличие фосфатазы, неспособность окислять маннит; для штаммов *S. saprophyticus* – противоположные свойства. Поскольку не все стафилококки по своим характеристикам укладываются в указанную схему, такие штаммы следует обозначать *Staphylococcus Spp.*

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Общая характеристика патогенных кокков.
2. Морфология, тинкториальные и культуральные свойства стафилококков.
3. Токсины и ферменты "агрессии".
4. Классификация стафилококков.
5. Способы обнаружения токсинов и ферментов "агрессии".
6. Лабораторная диагностика.
7. Препараты, применяемые для специфического лечения и профилактики стафилококковых заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомиться со схемой исследования при кокковых заболеваниях по таблице.
2. Микробиологический диагноз стафилококковых и стрептококковых заболеваний:
 - изучить демонстрационный препарат из чистых культур стафилококков, стрептококка; зарисовать;
 - изучить рост стафилококка на кровяном агаре, желточно-солевом агаре и МПБ, рост стрептококка на кровяном МПА и на МПБ;
 - сделать посев гноя на чашку с кровяным МПА;
 - изучить демонстрационный посев гноя на кровяном агаре;
 - приготовить мазок из гноя, окрасить по Граму, зарисовать;
 - сделать посев гноя на сахарный МПБ для определения чувствительности микрофлоры к антибиотикам;
 - определить чувствительность к антибиотикам по демонстрационным посевам;
 - посмотреть демонстрацию методики посева крови на сепсис;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 195 -</p>
--	---	---	----------------

- учесть результаты реакции плазмокоагуляции;
- познакомиться с исследованием пищевого продукта на наличие патогенных стафилококков – демонстрация преподавателем техники приготовления суспензии из исследуемого продукта (творога) и посева на чашки с кровяным МПА и желточно-солевым МПА;
- изучить препараты, применяемые для диагностики и лечения кокковых заболеваний.

Протокол исследования гноя

Цель исследования	Ход исследования	Результат
1	1. Приготовление, окраска по Граму и микроскопия мазков из гноя. 2. Посев гноя на молочно-солевой агар, на желточно-солевой агар, на кровяной агар.	
2	3. Микроскопия мазков из колоний. 4. Посев материала из колоний на сахарный агар газоном и определение чувствительности к антибиотикам методом дисков. 5. Посев материала из колоний на скошенный агар.	
3	6. Пересев со скошенного агара на плазму и на маннит. 7. Провести фаготипирование.	

Заключение:

Из гноя больного _____
выделен _____
с наибольшей чувствительностью к _____
фаготип _____

СТРЕПТОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа стрептококковых инфекций.

Задачи:

1. Знать основных возбудителей стрептококковых инфекций.
2. Изучить патогенетические факторы микроорганизмов.
3. Ознакомиться с методами лабораторной диагностики.

Уметь:

- интерпретировать полученные результаты лабораторного анализа гнойных стрептококковых заболеваний,
- оценить результаты антибиотикограмм и факторов персистенции,
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данных болезней.

Род *Streptococcus* объединяет обширную, широко распространенную в природе группу грамположительных, факультативно анаэробных микроорганизмов. Облигатно-патогенным для человека видом является *S. pyogenes* (группа А), являющийся причиной возникновения гнойно-воспалительных процессов различной локализации. *S. pneumoniae* – пневмококк является возбудителем острых пневмоний, часто сопровождающихся бактериемией, менингитов у детей, острых отитов, гнойных



конъюнктивитов и др. Среди многочисленных условно-патогенных для человека видов стрептококка лидирующее место занимает *S. agalactiae* (группа В), *S. faecalis* и *S. faecium* (группа Д).

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<p>1. Таксономия Возбудители стрептококковых инфекций относятся к семейству streptococcaceae, роду Streptococcus. Этот род включает в себя несколько десятков видов, которые подразделяются на: А. β-гемолитические; Б. α-гемолитические; В. α_1-гемолитические; Г. γ-негемолитические стрептококки.</p>
	<p>2. Основные биологические свойства: <u>Морфологические</u> – кокки с диаметров клеток 0,6-1,0 мкм, располагающиеся в виде цепочек различной длины. Спор не образуют, патогенные виды образуют капсулу. <u>Тинкториальные</u> – грамположительные клетки. <u>Культуральные</u>: факультативные анаэробы, температурный оптимум – 37°C, оптимальная реакция питательной среды при pH=7,2-7,6. На обычных питательных средах не растут, или растут очень скудно. На бульоне рост придонно-пристеночный в виде крошковатого осадка, бульон прозрачен. Для культивирования стрептококков используют кровяной агар, содержащий 5% дефибринированной крови. На плотных питательных средах стрептококки группы А образуют колонки 3-х типов: мукоидные, шероховатые, гладкие. <u>Биохимические свойства</u>: ферментируют глюкозу, мальтозу, сахарозу до кислоты, без образования газа. Молоко не свертывают. Протеолитическими свойствами не обладают, каталазонегативные. <u>Патогенность</u> I. Факторы адгезии: а) белок М – главный фактор патогенности, представляющий собой фибриллярные молекулы, которые образуют фимбрии на поверхности клеточной стенки стрептококков группы А. б) капсула, состоящая из гиалуроновой кислоты, маскирующая стрептококк от фагоцитов. II. Токсины и ферменты агрессии: гемолизин О (стрептолизин), гемолизин S, стрептокиназа, гиалуронидаза, ДНК-аза, аминопептитаза. <u>Антигенные свойства</u>: В настоящее время выявлено 20 серогрупп стрептококков, в зависимости от группоспецифичных полисахаридных антигенов, локализованных в клеточной стенке. Помимо общего для всего рода антигена и группоспецифичных у гемолитических видов обнаружены типоспецифические антигены: М, Т и R, а также перекрестно реагирующие антигены.</p>
Эпидемиология	<p>Стрептококки являются постоянными обитателями слизистых оболочек верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта. Источником экзогенной инфекции служат больные острыми стрептококковыми болезнями (ангина, скарлатина), а также реконвалесценты после них. Основной способ заражения – воздушно-капельный, в других случаях – прямой контакт, и очень редко –</p>



	алиментарный.
Патогенез	Проникнув через поврежденную кожу микробы распространяются из местного очага через лимфатическую и кровеносную системы. Заражение воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем приводит к поражению лимфоидной ткани (тонзиллиты), в процесс вовлекаются регионарные лимфоузлы, откуда возбудитель распространяется лимфогенно и гематогенно. Стрептококки могут вызывать самые различные заболевания: раневые инфекции, рожистое воспаление, пуперальный сепсис, инфекции дыхательных путей. Сенсибилизирующие свойства микробов определяют такие осложнения как нефрозонефриты, артриты, поражение сердечно-сосудистой системы, ревматизм.
Постинфекционный иммунитет	После перенесенного заболевания формируется анитоксический и антимикробный иммунитет, который носит прочный и длительный характер

Этиотропная терапия. Стрептококки сохраняют чувствительность к бета-лактамам антибиотикам, которые относят к препаратам выбора при лечении стрептококковых инфекций. Для профилактики скарлатины контактными лицам эффективно используется человеческий нормальный иммуноглобулин.

Схема лабораторной диагностики гнойных стрептококковых инфекций

Материал	Метод исследования	Результат
Слизь из зева, с миндалин, отделяемое ран	1. Микроскопический 2. Бактериологический посев на 5% кровяной агар А. Микроскопия мазков из колонии Б. Выделение чистой культуры Установление принадлежности культуры к роду <i>Streptococcaceae</i> Микроскопический Культуральное определение Биохимическая активность (среды Гисса) Каталазный тест Определение признаков патогенности: 1. Гемолизин 2. Стрептокиназа 3. Гиалуронидаза 4. ДНК-аза	Гр+ кокки Рост колоний с зоной гемолиза Гр+ кокки Цепочки кокков Гемолитические колонии Ферментация до кислоты Каталазонегативные

Идентификация стрептококков

Целью первичной идентификации является установление принадлежности выделенной культуры к семейству *Streptococcaceae* и роду *Streptococcus*. Для установления принадлежности культур к семейству *Streptococcaceae* используют тест на каталазу.

В отличие от родственного семейства микрококков представители семейства стрептококков не имеют фермента каталазы, и не способны расщеплять перекись водорода с образованием воды и газообразного кислорода.



Установление принадлежности культур к роду *Streptococcus*

На этом этапе исследования применяют методы, позволяющие идентифицировать стрептококки. К их числу относятся бактериоскопический, культуральный и биохимический методы.

Бактериоскопический метод

В мазках, окрашенных по Граму, стрептококки располагаются цепочками, или по четыре. Размеры микробных клеток стрептококков 0,6-1, мкм. Грамположительные кокки.

Культуральный метод

По виду гемолиза на кровяном агаре стрептококки делятся на 3 группы: гемолитические стрептококки, обуславливающие лизис эритроцитов с образованием вокруг колоний прозрачной зоны. При этом колонии могут быть мукоидные, шероховатые, гладкие. Зеленеющие стрептококки образующие на кровяном агаре альфа-реакцию в виде полупрозрачной, зеленоватого оттенка зоны, обусловленной превращением гемоглобина в мет-гемоглобин. Негемолитические стрептококки, не реагирующие с эритроцитами и в процессе своего роста не вызывающие изменений кровяного агара.

Видовая идентификация стрептококков

Культуры гемолитических и зеленеющих стрептококков, клетки которых при микроскопическом исследовании представляют собой грамположительные полиморфные кокки, располагающиеся парами, короткими цепочками или небольшими скоплениями необходимо дифференцировать с энтерококками.

Для этого суточную бульонную культуру высевают на желчно-солевой агар и в молоко с 0,1% метиленового синего. На ЖЩА растут только энтерококки в виде круглых, блестящих колоний с ровным краем, синеватого цвета. В пробирках с молоком энтерококк редуцирует метиленовый синий, вследствие чего среда обесцвечивается и из голубой становится кремового цвета через 16-20 часов инкубации в термостате.

Способность микробных клеток к росту на ЖЩА. и редуцированию 0,1% метиленового синего в молоке указывает на принадлежность исследуемой культуры к группе энтерококков.

Дифференциация энтерококков внутри группы

Внутри группы энтерококки делятся по ферментативным, редуцирующим и гемолитическим свойствам на ряд видов и подвидов. Дифференциация культур энтерококка внутри групп ведется по следующей схеме:

Виды и подвиды	Резистентность к теллуриту калия	Энтерококковая дифференциально-диагностическая среда			Подвижность в 0,2% агаре
		редукция ТТХ	гемолиз	протеолиз	
1. <i>S. faecalis</i>	+	+	—	—	—
2. <i>S. faecalis</i> subsp. <i>zymogenes</i>	+	+	+	±	—
3. <i>S. faecalis liquefaciens</i>	+	+	—	+	—
4. <i>S. faecium</i>	—	—	±	—	—
5. Подвижные энтерококки	+	+	±	—	+

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Морфология, тинкториальные и культуральные свойства стрептококков.
2. Токсины и ферменты стрептококков.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 199 -</p>
--	---	---	----------------

3. Классификация стрептококков по гемолитическому признаку и антигенной структуре.
4. Заболевания, вызываемые патогенными стрептококками.
5. Лабораторная диагностика.
6. Препараты, используемые для лечения и профилактики стрептококковых инфекций.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомится со схемой исследования при кокковых заболеваниях.
2. Микробиологический диагноз стрептококковых заболеваний:
 - а. изучить демонстрационный препарат из чистой культуры стрептококка; зарисовать;
 - б. изучить рост стрептококка на кровяном МПА и на МПБ;
 - в. сделать посев гноя на чашку с кровяным МПА;
 - г. изучить демонстрационный посев гноя на кровяном агаре;
 - д. приготовить мазок из гноя, окрасить его по Граму, зарисовать;
 - е. определить чувствительность к антибиотикам по демонстрационным посевам.

Схема лабораторного исследования при ангине и скарлатине

Материал для исследования: мазок из зева.

День исследования	Ход исследования	Результат
1 день	1. Бактериоскопия мазка из зева, окраска по Граму 2. Посев мазка из зева на кровяной агар	В поле зрения грамположительные цепочки стрептококков На агаре мелкие точечные колонии в виде капелек росы с зоной гемолиза Цепочки стрептококка
2 день	1. Микроскопия мазка из колонии	

Заключение: В мазке обнаружен *Streptococcus pyogenes*.

ПНЕВМОКОККИ

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<u>1. Таксономия</u> Пневмококки относятся к семейству Streptococcaceae, роду Streptococcus
	<u>2. Основные биологические свойства:</u> <u>Морфологические</u> – кокки, напоминающие пламя свечи: один конец клетки заострен, другой уплощен, располагаются парами, иногда в виде коротких цепочек. Спор не образуют. В организме человека и животных, а также на средах, содержащих кровь или сыворотку образуют капсулу. <u>Тинкториальные</u> – грамположительные кокки, но в молодых и старых культурах нередко грамтрицательны. <u>Культуральные:</u> факультативные анаэробы, температурный оптимум – 37°C., оптимальная pH = 7,2-7,6. Для культивирования используют кровяной агар, где колонии мелкие, круглые, окруженные зоной гемолиза (альфа-гемолиз), рост на сахарном бульоне не сопровождается помутнением и выпадением небольшого осадка. <u>Биохимические свойства.</u> Ферментация углеводов: глюкозы, сахарозы с образованием кислоты, без газа. <u>Факторы патогенности:</u> 1. Амилаза – активизирующуюся под влиянием желчных кислот,



	<p>разрывающая связь между аланином и муравьиновой кислотой пептидогликана.</p> <p>2. Капсула – главный фактор патогенности бескапсульные пневмококки утрачивают вирулентность.</p> <p><u>Антигенные свойства</u>: кроме соматического 0-антигена, пневмококки имеют капсульный полисахаридный антиген, по которого разделяют на 83 сероварианта, 56 из них разбиты на 19 групп, 27 представлены самостоятельно.</p>
Эпидемиология	Источником пневмококковой инфекции является больной человек или реконвалесцент. Заражение происходит воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем.
Патогенез	Пневмококки являются основным возбудителем острых и хронических воспалительных заболеваний легких. Кроме того, они вызывают ползучую язву роговицы, отиты, эндокардит, перитониты, менингиты, септицемии и другие гнойно-воспалительные процессы.
Постинфекционный иммунитет	Типоспецифический, обусловлен появлением антител, против типового капсульного полисахарида.

Для **специфической профилактики** пневмококковых пневмоний у пожилых и ослабленных людей, а также лиц с иммунодепрессией можно использовать химическую пневмококковую вакцину, содержащую типоспецифические полисахариды нескольких типов пневмококков. В последнее время для специфической профилактики различных, в том числе и стрептококковой этиологии, поражений верхних дыхательных путей очень часто рекомендуется вакцина IR S19.

Схема лабораторной диагностики при пневмококковых инфекциях

Материал	Метод исследования	Результат
Мокрота, отделяемое носоглотки, экссудат, гной	<p>1. Микроскопический</p> <p>2. Бактериологический посев на 5% кровяной агар</p> <p>А. Микроскопия мазков из колонии</p> <p>Б. Выделение чистой культуры</p> <p>3. Биологический - заражение белых мышей</p> <p>А. Мазки-отпечатки, окраска по Граму</p> <p>Б. Взятие экссудата и постановка реакции агглютинации с типоспецифическими сыворотками</p>	<p>Гр + кокки</p> <p>Рост мелких, нежных, окруженные зеленоватой зоной и небольшим гемолизом</p> <p>Гр + кокки</p> <p>Гр + кокки</p> <p>+ РА</p>

Видовая идентификация пневмококков

Дифференциально-диагностические признаки пневмококков и зеленящих стрептококков

Вид	Ферментация инулина	Признак растворяющее действие 10-40% раствора желчи	Ингибирующее действие оптохина 1:500 000



Пневмококки	+	+	+
Стрептококки	-	-	-

Оптохиновый тест

Чистую культуру засевают на агар, содержащий 1:50000-1:100000 оптохина. На следующие сутки учитывают результат. Пневмококки не растут в присутствии оптохина. Можно использовать бумажные диски 6 мкг оптохина, которые накладываются после посева на поверхность среды (посев лучше производить секторами). У пневмококков вокруг диска образуется зона задержки роста не менее 5 мм.

Тест с желчью

Основан на способности 10% желчи и 2% раствора оксидолатов лизировать пневмококк.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ


1. Морфология, тинкториальные и культуральные свойства пневмококков.
2. Заболевания человека, вызываемые пневмококками.
3. Антигенная структура пневмококков.
4. Лабораторная диагностика пневмококковых заболеваний.
5. Специфическая профилактика пневмококковых инфекций.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомиться со схемой исследования при пневмококковых инфекциях.
2. Микробиологический диагноз пневмококковых инфекций:
 - а. изучить демонстрационный препарат из чистой культуры пневмококка, зарисовать;
 - б. изучить рост пневмококка на кровяном агаре и МПБ;
 - в. сделать посев мокроты на чашку с кровяным МПА;
 - г. приготовить мазок из мокроты, окрасить его по Граму, зарисовать;
 - д. определить чувствительность к антибиотикам по демонстрационным посевам.

Схема микробиологических исследований при пневмококковых инфекциях

Материал	Метод исследования	Результат
Мокрота, гной, экссудат из плевральной полости, слизь из гортани, носоглотки	1. Микроскопический	Гр+ кокки
	2. Бактериологический посев на 5% кровяной агар	Мелкие, округлые, кусочные колонии с гемолизом Гр+ кокки
	А. Микроскопия мазков из колоний Б. Выделение чистой культуры	Гр+ кокки Гемолитические колонии
	1. Микроскопический Культуральное определение	Гр+ кокки
	2. Биохимическая активность тест с желчью ферментация глюкозы, сахарозы инулина	+ Ферментация до кислоты, без образования газа
	3. Биологический	Гр+ кокки
	А. Заражение белых мышей с последующим вскрытием и приготовлением мазков-отпечатков.	

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 203 -</p>
--	---	---	----------------

	<p>2. Токсины и ферменты агрессии, гиалуронидаза, нейраминидаза, протеазы, плазмокоагулаза, фибринолизин, гемолизин, антилизоцимная активность. <u>Антигенные свойства:</u> У менингококков имеются 4 антигенные системы: 1. Капсульные полисахаридные антигены; 2. Белковые антигены наружной мембраны; 3. Белковый антиген, общий для всего рода; 4. Липополисахаридный антиген, включающий 8 серотипов. В соответствии с этим антигенная формула менингококков имеет следующий вид: серогруппа: серотип по белку: субтип по белку: серотип по ЛПС.</p>
Эпидемиология	<p>Источником инфекции может быть только человек: больной, реконвалесцент или бактерионоситель. Распространение инфекции происходит воздушно-капельным путем.</p>
Патогенез	<p>Входными воротами инфекции является носоглотка, откуда менингококки проникают в лимфатические сосуды и кровь, развивается бактериемия. Затем микроорганизмы внедряются в мозговые оболочки. Менингококки могут вызывать следующие формы болезни: нозофарингит, менингококцемия (менингококковый сепсис), эпидемический цереброспинальный менингит (гнойное воспаление мозговых оболочек головного и спинного мозга)</p>
Постинфекционный иммунитет	<p>После перенесенной болезни формируется прочный длительный антимикробный иммунитет против всех серогрупп менингококков. Видоспецифический.</p>

Этиотропная терапия менингококковой инфекции проводится сульфа-ниламидами или пенициллином G, а у людей с аллергией к пенициллину - хлорамфениколом.

Если быстрые методы диагностики не позволяют предварительно идентифицировать возбудителя или по каким-либо причинам происходит задержка с выполнением люмбальной пункции, то антибактериальная терапия назначается эмпирически, не позднее 2-3 часов с момента установления диагноза. Выбор антибиотиков в данной ситуации диктуется необходимостью перекрыть весь спектр возможных возбудителей.

Специфическая профилактика проводится по эпидемиологическим показаниям или военнослужащим – химической менингококковой вакциной, содержащей полисахаридные антигены серогрупп А и С (активный антимикробный иммунитет), или человеческим нормальным иммуноглобулином (пассивный антимикробный иммунитет).

В отношении инфекционных заболеваний менингококковой этиологии в настоящее время действует приказ МЗ РФ № 375 от 23.12.98 г., «О мерах по усилению эпидемиологического надзора и профилактики менингококковой инфекции и гнойными бактериальными менингитами», в соответствии с которым и осуществляется специфическая профилактика менингококковой инфекции.

Схема лабораторной диагностики при менингококковой инфекции

Материал	Метод исследования	Результат
<p>Ликвор, слизь из зева, носа, гной, экссудат, СМ-жидкость</p>	<p>1. Микроскопический 2. Бактериологический А. Посев на сывороточный МПА с ристомицином (для подавления сопутствующей флоры) Б. Пересев на скошенные сывороточные</p>	<p>Гр-диплококки бобовидной формы Бесцветные, мелкие колонии (через 1 день, на 2 день) Рост Роста нет</p>

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 204 -</p>
--	---	---	----------------

	<p>среды и МПА В. Микроскопия мазка из колоний Г. Посев на «пестрый ряд» 3. Серологический А. Типирование менингококков в РА с типоспецифическими сыворотками А, В, С Б. Реакция преципитации для обнаружения менингококкового антигена в материале</p>	<p>Гр–диплококки Ферментация глюкозы и мальтозы до кислоты Реакция положительная с одной из типоспецифических сывороток Положительная</p>
<p>Сыворотка крови</p>	<p>РПГА</p>	<p>Положительная</p>

Культуральные и биохимические свойства патогенных видов рода *Neisseria*

Вид	ката-ла-за	окси-даза	глю-коза	маль-тоза	редукция		гомо-лиз	пиг-мент	лак-тоза	сахароза
					нитрат	нитрит				
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	+	-	±	-	-	-	-

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ


1. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства менингококков.
2. Токсины и ферменты агрессии.
3. Заболевания человека, вызываемые менингококками, значение бактерионосительства.
4. Лабораторная диагностика менингококковых заболеваний.
5. Специфическая профилактика менингококковых заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомиться со схемой исследования при менингококковых инфекциях.
2. Микробиологический диагноз менингококковых заболеваний:
А. Изучить демонстрационные препараты менингококка. Зарисовать.
Б. Познакомиться с техникой забора материала при исследовании на менингококковое носительство (демонстрация).
В. Определить чувствительность к антибиотикам по демонстрационным посевам.

Протокол исследования гноя

День исследования	Ход исследования	Результат
I	<ol style="list-style-type: none"> 1. Приготовление, окраска по Граму и микроскопия мазков из гноя 2. Посев гноя на сывороточный МПА с 	

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 205 -</p>
--	---	---	----------------

<p>II</p>	<p>ристомиицином 1. Микроскопия мазков из колоний 2. Пересев на скошенные сывороточные среды 3. Определение чувствительности к антибиотикам методом стандартных дисков</p>	
<p>III</p>	<p>1. Посев на «пестрый ряд» 2. Определение каталазной активности 3. Постановка оксидазного теста 4. Проведение серологической диагностики реакция агглютинации с типоспецифическими сыворотками А, В, С реакция преципитации</p>	

Заключение:

из гноя больного _____

выделен _____

с наибольшей чувствительностью к _____

ГОНОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Цель занятия: выработать навыки лабораторного анализа гонококковых инфекций.

Задачи:

1. Изучить биологические свойства возбудителя гонококковых инфекций.
2. Знать патогенетические факторы микроорганизмов.
3. Освоить методы лабораторной диагностики.

Уметь:

интерпретировать результаты лабораторного анализа гонококковых инфекций;

оценить результат антибиотикограммы и факторов персистенции.

Гонорея – инфекционное заболевание человека, вызываемое гонококком и характеризующееся воспалительным поражением преимущественно слизистых оболочек мочеполовых органов. К экстрагенитальным формам относятся эндокардиты, менингиты, стоматиты, бленоррея новорожденных и др.

Раздел	Вопросы для изучения
<p>Биология возбудителя</p>	<p><u>1. Таксономия</u> Возбудитель гонококковых инфекций относится к семейству Neisseriaceae, роду Neisseria, среди которого наиболее значимыми являются <i>N. gonorrhoeae</i>. <u>2. Основные биологические свойства:</u> <u>Морфологические</u> – кокки, с диаметром клеток 0,7-0,8 мкм, располагающиеся попарно. Спор, капсул не образуют. <u>Тинкториальные</u> – грамотрицательные клетки. <u>Культуральные:</u> факультативные анаэробы. Температурный оптимум – 35-36°C, но рост происходит в диапазоне 30-38,5°C. Оптимальная реакция питательной среды рН = 7,2-7,6. Плохо растет на обычных питательных средах, культивируется на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость или кровь. Лучшие среды для выращивания - сывороточный агар и среда Бейли. Гонококки образуют колонии двух видов: мелкие блестящие (Т1 и Т2) и большие плоские и тусклые (Т3,</p>



	<p>Т4).</p> <p><u>Биохимические свойства:</u> гонококки ферментируют глюкозу с образованием кислоты, без газа. Оксидазоположительные. Редуцируют нитриты, каталазоположительные.</p> <p><u>Факторы патогенности:</u></p> <p>Пили (белок пилин) – прикрепление гонококков к эпителию влагалища, фаллопиевых труб и полости рта.</p> <p>Капсула – антифагоцитарная активность</p> <p>Белки наружной мембраны:</p> <p>Протеин I (Por-пориновый белок – способствует внутриклеточному выживанию бактерий, препятствуя слиянию лизосом с фагосомой нейтрофилов</p> <p>Протеин II (Opa – Opacity protein; Opacity – мутность), т.е. протеин мутности) – опосредует плотное прикрепление к эпителиальным клеткам и инвазию внутрь клеток</p> <p>Протеин III (Rmp – Reduction modifiable protein) – защищает поверхностные антигены (Por-белок, липоолигосахарид) от бактерицидных антител</p> <p>LOS (Lipooligosaccharide) – липоолигосахарид обладает свойствами эндотоксина</p> <p>IgA1 – протеаза – разрушает IgA1</p> <p>Бета-лактамаза – гидролизует бета-лактамное кольцо пенициллинов</p> <p><u>Антигенное строение:</u> в настоящее время описаны разные антигенные популяции гонококков. По белковым антигенам мембраны гонококков распределены на 16 серотипов. Кроме того, микроорганизмы различаются по своим липополисахаридным антигенам.</p>
Эпидемиология	Единственным источником инфекции является человек. Заражение происходит половым путем, реже контактно-бытовым.
Патогенез	Основным местом обитания гонококков является поверхность слизистой оболочки мочевого тракта, реже – прямой кишки и глотки. Местом входных ворот у мужчин является слизистая оболочка уретры, у женщин – предверия влагалища, уретры и шейки матки. В случае проникновения через эпителиальный барьер микробы проникают в окружающие ткани: железы уретры и шейки матки, трубы, матку, предстательную железу, в кровь, синовиальные оболочки суставов, сердце, конъюнктиву, вызывая воспалительные процессы и иногда септицемию.
Постинфекционный иммунитет	Перенесенное заболевание не оставляет иммунитета, что связано с тем, что иммунитет носит типоспецифичный характер.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства гонококков.
2. Токсины и ферменты агрессии.
3. Заболевания человека, вызываемые гонококками.
4. Лабораторная диагностика острой гонореи.
5. Лабораторная диагностика хронической гонореи.
6. Лабораторная диагностика бленнореи.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ



1. Познакомиться со схемой исследования при гонококковых инфекциях.
2. Микробиологический диагноз гонококковых заболеваний.

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Цель занятия: овладеть навыками микробиологической диагностики воздушно-капельных инфекций.

Знать:

- основных возбудителей бактериальных воздушно-капельных инфекций;
- патогенез заболевания, методы лабораторной диагностики.

Уметь:

- интерпретировать результаты лабораторных исследований;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии указанных заболеваний.

Возбудители инфекций, передающихся воздушно-капельным путем, относятся к различным семействам, родам и видам микроорганизмов, которые отличаются друг от друга по морфологии, культуральным и биохимическим признакам и антигенной структуре.

Этиологически воздушно-капельные инфекции обуславливают стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, коринебактерии дифтерии, бордетеллы коклюша, актиномицеты и др. они имеют одинаковый путь передачи, локализуются в эпителии дыхательных путей, но при этом вызывают избирательное поражение других органов и тканей.

Для микробиологического подтверждения диагноза используются, главным образом, бактериоскопический и бактериологический методы, иногда – биологические пробы на животных и аллергический метод.

В данном методическом пособии рассмотрены биология возбудителя, патогенез и методы лабораторной диагностики наиболее важных воздушно-капельных инфекций (дифтерия, коклюш, туберкулез).

ДИФТЕРИЯ

Это острое инфекционное заболевание, которое характеризуется общей интоксикацией организма с поражением периферической нервной системы, миокарда, надпочечников и воспалительным процессам в месте внедрения микроба с образованием фибриновых пленок.

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<p>1. <u>Таксономия.</u> Возбудители дифтерии относятся к роду <i>Corynebacterium</i>, который включает виды:</p> <p>а) <i>Corynebacterium diphtheriae</i> – возбудители дифтерии у человека. Возбудитель включает варианты: <i>gravis</i>, <i>mitis</i>, <i>intermedius</i>.</p> <p>б) <i>Corynebacterium ulcerans</i> – возбудители мастита у коров, могут вызывать ангины у людей.</p> <p>в) <i>Corynebacterium xerosis</i>, <i>Hoffmani</i> – дифтероиды, ложнодифтерийные палочки – непатогенны для человека, вегетируют на коже и слизистых оболочках здоровых людей.</p> <p>2. <u>Основные биологические свойства:</u> <u>Морфологические</u> – длинные, тонкие палочки с утолщениями на концах, в которых располагаются зерна волютинина. В мазках из чистой культуры</p>



	<p>располагаются под углом друг ко другу. Спор, капсул не образуют, неподвижны.</p> <p><u>Тинкториальные:</u> Gr+, специфической является окраска по Нейссеру. При этом палочка окрашивается в желтый цвет, зерна волютина – в черный или темно-синий.</p> <p><u>Культуральные:</u> факультативные анаэробы, на простых средах не растут. Культивируются на сложной среде, содержащих сыворотку, кровь, теллурид калия. (Среда Ру – свернутая лошадиная сыворотка, среда Лефлера – 3 части бычьей сыворотки и 1 часть сахарного бульона, теллуриновая среда (Клауберга II), хинозоловая (Бучина). На сывороточных средах мелкие, выпуклые, кремового цвета колонии разной формы в зависимости от варианта: на хинозоловых – голубого цвета, на Клауберга колонии var.gravis образует крупные серые с неровным краем колонии, mitis – мелкие, влажные, выпуклые черного цвета.</p> <p><u>Биохимические:</u> все три варианта расщепляют глюкозу, мальтозу до кислоты, ферментируют цистин, не образуют уреазу. Крахмал и гликоген ферментирует только вариант – gravis.</p> <p><u>Антигенная структура:</u> имеют группоспецифический соматический антиген и типоспецифический протеиновый поверхностный К-антиген</p> <p><u>е) патогенность:</u> продуцируют экзотоксин (гистотоксин) белковой природы, который является продуктом незавершенного синтеза цитохрома. Легко проникает через мембраны клеток, оказывает избирательное действие – вызывает отек и некроз тканей в месте введения, поражает миокард, надпочечники и нервную систему.</p> <p>Экзотоксин состоит из двух компонентов А и В.</p> <p>А – собственно экзотоксин;</p> <p>В – комплекс токсинов: гемолизин и некротоксин, фибринолизин.</p> <p><u>Ферменты агрессии:</u> гиалуронидаза, нейраминидаза.</p>
Эпидемиология, патогенез заболевания	<p><u>Источник инфекции</u> – больной, бактерионоситель. Пути передачи – воздушно-капельный, контактный, редко алиментарный.</p> <p><u>Патогенез.</u> Входные ворота: слизистые оболочки зева, носа, трахеи, глаз, раневая поверхность. Возбудитель остается на слизистых оболочках, размножается, выделяет экзотоксин, который поступает в кровь и разносится по организму – токсинемия. Местно вначале действует фракция В, которая некротизирует клетки слизистой, вызывает дифтеритическое воспаление и способствует проникновению в клетки фракции А. Фракция А нарушает внутриклеточный обмен в клетках миокарда (миокардиты), нервных клеток (полиневриты), надпочечников и паренхиматозных органов (токсический нефроз) и др. на миндалинах образуются грязно-белые налеты (пленки), которые снимаются шпательем с трудом, и развивается отек. Фибринозное воспаление и отек иногда приводит к развитию асфиксии.</p>

Схема лабораторной диагностики при дифтерии

Материал	Метод исследования	Результаты
Слизь из зева и носа, пленки, налеты с миндалин	<u>Бактериоскопический.</u> Материал берут двумя стерильными ватными тампонами, один используют для приготовления микропрепарата, другой для посева. Мазки окрашивают	Коринебактерии дифтерии располагаются под углом друг к другу в виде буквы «V» зерна волютина находятся по полюсам палочек. При окраске по Нейссеру



	<p>по Нейсеру и метиленовым синим. Метод имеет ориентировочное значение.</p> <p><u>Бактериологический.</u></p> <p>Материал засевают на одну из из элективных сред: сывороточную Клауберга II хинозоловую. На этих средах задерживается рост кокков и др. микрофлоры зева. На второй день из подозрительных колоний делают мазки, окрашивают по Нейссеру и отсевают на скошенный сывороточный агар для выделения чистой культуры. На третий день проводят идентификацию чистой культуры по следующим тестам:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Определение токсигенности методом диффузной преципитации в агаре;2. Определение фермента цистиназы (проба Пизу);3. Определение уреазной активности – посев в среду с мочевиной и индикатором крезолрот (проба Закса). На этом этапе дают положительный ответ, но исследование продолжают.4. Посев на углеводы: глюкозу, мальтозу, крахмал, гликоген. Выдача окончательного ответа.	<p>тело палочки окрашивается в желтый цвет, а зерна волютин в черный цвет. Дифтероиды не имеют зерен волютин, а сами палочки расположены параллельно. На свернутой сыворотке мелкие круглые колонии кремового цвета с уплотнением в центре.</p> <p>На среде Клауберга тип <i>gravis</i> образует крупные с радиальной исчерченностью серого цвета колонии; тип – <i>mitis</i> круглые, выпуклые колонии черного цвета.</p> <p>Исследуемая культура образует линии преципитации в агаре. Расщепляет цистин – по ходу укола почернение среды. Не образует уреазу – среда не изменяет цвет.</p> <p>Дифтероиды выделяют уреазу, среда с мочевиной окрашивается в розовый цвет.</p> <p>Тип <i>gravis</i> расщепляет глюкозу, мальтозу, крахмал и гликоген до кислоты, тип <i>mitis</i> полисахариды не ферментирует.</p>
--	--	---

Определение токсигенности дифтерийных коринебактерий

Токсигенность определяют методом диффузной преципитации в агаре по Оухтерлони. Для этого на чашку с сывороточным агаром накладывают полоску фильтровальной бумаги, пропитанную дифтерийной антитоксической сывороткой. Рядом с полоской бумаги засевают выделенную культуру в виде «бляшек». Если культура токсигенна, то через 24-48 часов диффундирующий в питательную среду токсин и антитоксическая сыворотка образуют линии преципитации белого цвета.

Ускоренные методы микробиологической диагностики дифтерии

В качестве ускоренного метода диагностики применяется реакция иммунофлюоресценции (РИФ).

Препараты для специфической профилактики и терапии


Плановая профилактика проводится дифтерийным анатоксином, который входит в состав вакцины АКДС.

Для экстренной профилактики и лечения используют противодифтерийную антитоксическую сыворотку.

Антибиотики: эритромицин, олеандомицин, тетрациклин.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Общая характеристика и классификация коринебактерий.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 210 -</p>
--	---	---	----------------

2. Источник заражения, пути передачи инфекции, патогенез заболевания.
3. Материал для исследования, методы лабораторной диагностики.
4. Бактериологический метод исследования дифтерии.
5. Характеристика экзотоксина и метод определения токсикогенности дифтерийной палочки.
6. Специфическая профилактика и терапия дифтерии.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Микроскопия демонстрационного препарата дифтерийной палочки в чистой культуре, окрашенного по Нейссеру.
2. Окраска готовых микропрепаратов уксуснокислым метилвиолетом, микроскопия.
3. Изучение бактериологического метода исследования при дифтерии с последующей идентификацией возбудителя:
 - а) характер роста на сывороточных и теллуритовых средах;
 - б) определение токсигенности методом диффузной преципитации в агаре по Оухтерлони;
 - в) реакции на цистиназу (проба Пизу);
 - г) реакция на уреазу (проба Закса);
 - д) ферментация моно- и полисахаридов.
4. Изучение препаратов, применяющихся для диагностики, специфической профилактики и лечения дифтерии.
5. Выполненную работу оформить протоколом по следующей схеме, отметить полученные результаты.

Протокол бактериологического исследования материала при дифтерии

Дата	Ход исследования	Результаты
1 день	1. Посев пленок из зева на сывороточный агар, среду Клауберга, хинозоловый агар.	
2 день	2. Изучение подозрительных на дифтерию колоний. 3. Пресев на сывороточный скошенный агар для выделения чистой культуры.	
3 день	4. Изучение и идентификация чистой культуры: а) мазок, окраска по Нейссеру; б) изучение токсикогенности; в) изучение цистиназы; г) посев в столбики с глюкозой, мальтозой, сахарозой, крахмалом, гликогеном.	
Вывод:		

Зарисовать микропрепарат дифтерийной палочки, окрашенной по Нейссеру и уксуснокислым метилвиолетом. Зарисовать на чашке Петри с методом определения токсигенности дифтерийной палочки.


ТУБЕРКУЛЕЗ

Туберкулез - инфекционное заболевание человека и животных с склонностью к хроническому течению, характеризующееся образованием специфических воспалительных изменений (бугорков) с преимущественной локализацией в легких.

Цель занятия: овладеть навыком оценки микробиологической диагностики туберкулеза.

Знать:

- биологию возбудителей;
- патогенез заболевания;
- эпидемиологию туберкулеза;

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 211 -</p>
--	---	---	----------------

- лабораторную диагностику заболевания.

Уметь:

- интерпретировать результаты лабораторных исследований;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии туберкулеза.

Раздел	Вопросы для изучения
Таксономия	Семейство Mycobacteriaceae род Mycobacterium. Виды микобактерий – возбудители туберкулеза человека: M.tuberculosis, M.bovis, M.avium, M.muris.
Биологические свойства	<p><u>Морфологические свойства</u> – палочки.</p> <p><u>Тинкториальные свойства</u>. Окраска по Цилю-Нильсену. Особенность строения стенки – большое количество липидов, что придает кислотоустойчивость.</p> <p><u>Культуральные свойства</u> – растут очень медленно: M.tuberculosis 28 дней, M.bovis и M.avium до 35 дней и M.muris – 26 дней. Возбудители туберкулеза дают преимущественно R-формы колонии (шероховатые, приподнимающиеся, с неровным краем, беспигментные)</p> <p><u>Биохимические тесты</u>: пероксидазная активность, каталазная активность, ниациновый тест, редукция нитратов, никотинамидная активность.</p>
Факторы вирулентности	Токсические компоненты клетки возбудителей туберкулеза: (воск Д, мураминопептид, тригалоэдимиколат, фтионовые кислоты, сульфатиды) и протеин имеют значение в развитии специфических поражений тканей, гликопептид (корд-фактор) разрушает митохондрии клеток.
Патогенез, клиника. Что такое первичный туберкулезный комплекс и когда он образуется? Что такое вторичный туберкулез?	<p><u>Клинические формы туберкулеза</u>:</p> <p>а) по локализации – туберкулез легких, туберкулез почек, костно-суставной туберкулез, туберкулезный менингит;</p> <p>б) по характеру поражения: миллиарный, инфильтративный, лобарная пневмония, диссеминированный, кавернозный, фиброзно-кавернозный туберкулез.</p>
Иммунитеты	<p><u>Типы иммунного ответа при туберкулезе</u>:</p> <p>а) клеточный – основной механизм защиты;</p> <p>б) гуморальный – выработка АТ не коррелирует с напряженностью иммунитета;</p> <p><u>Особенности иммунитета при туберкулезе</u>:</p> <p>а) нестерильный;</p> <p>б) неустойчивый;</p> <p>в) клеточный;</p> <p>г) аллергический.</p> <p>Большое значение имеет антимикробная резистентность при туберкулезе: активность фагоцитов и система комплемента.</p>
Микробиоло-	Методы микробиологической диагностики туберкулеза:



гическая диагностика	<p><u>Бактериоскопический:</u></p> <p>а) иммерсионная микроскопия мазков, окрашенных по Цилю-Нильсену;</p> <p>б) люминесцентная микроскопия мазков, обработанных флюорохромами.</p> <p><u>Бактериологический:</u></p> <p>Посев на питательные среды (Петрова, Павловского, Сотона, Гельбера). Метод микрокультур Прайса.</p> <p><u>Серологический.</u></p> <p><u>Аллергический</u> (проба Манту с туберкулином). Какой из методов используют для широкого обследования населения?</p> <p>Аллергический.</p> <p>Какой из методов наиболее прост в условиях лаборатории?</p> <p>Бактериоскопический, но имеет ориентировочное значение.</p> <p>Ускоренным методом является метод Прайса (метод микрокультур).</p> <p><u>Серодиагностика.</u></p> <p>Используются:</p> <p>а) непрямая РИФ;</p> <p>б) РПГА с эритроцитарным диагностикумом из фосфатидных антигенов микобактерий;</p> <p>в) РПГА с протеиновыми эритроцитарными диагностикумами.</p> <p>У кого может быть положительная проба Манту?</p> <p>У больных, у вакцинированных, при бытовом инфицировании.</p>
Специфическая профилактика	<p>Специфическая профилактика туберкулеза проводится живой вакциной БЦЖ. Ранние сроки первичной вакцинации необходимы, чтобы авирулентный штамм живой вакцины прижился в организме и создал нестерильный иммунитет. Ревакцинацию проводят лицам с отрицательной реакцией Манту.</p>
Этиотропная терапия	<p>Средства противотуберкулезной терапии:</p> <p>а) ПАСК;</p> <p>б) ГИНК;</p> <p>в) тубазид и фтивазид;</p> <p>г) антибиотики резерва (рифампицин и др.).</p>

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ ТУБЕРКУЛЕЗА

1. Познакомиться со схемой исследования при туберкулезе.
2. Изучить характер роста туберкулезных бактерий на плотной среде.
3. Посмотреть демонстрационные препараты из мокроты больного туберкулезом, зарисовать.
4. Познакомиться с методом микрокультивирования (демонстрация преподавателя).
5. Познакомиться с препаратами, применяемыми при диагностике и профилактике туберкулеза.
6. Выполненную работу и полученные результаты оформить в виде протокола по схеме:

Схема исследования при туберкулезе

Вид исследования	Материал для исследования	Дни болезни, которые исследованы наиболее успешно
1. Микроскопия мазка,	Мокрота, промывные воды	На протяжении всей болезни.



окрашенного по Цилю-Нильсену люминисцентная микроскопия. 2. Метод обогащения (флотационный метод). 3. Выделение чистой культуры. 4. Метод микро-культуры на стекле. 5. Биологическая проба на морских свинках. 6. Диагностические туберкулиновые пробы	желудка, моча. Спинномозговая жидкость.	До двух лет диагностического значения, указывают их инфицирование организма.
Заключение:		

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Характеристика возбудителей туберкулеза.
2. Биологические типы микобактерий туберкулеза.
3. Судьба микроба в организме при туберкулезе.
4. Особенности иммунитета при туберкулезе.
5. Методы лабораторной диагностики туберкулеза.
6. Туберкулин, его применение. Специфическая профилактика туберкулеза.

КОКЛЮШ И ПАРАКОКЛЮШ

Коклюш - острое инфекционное заболевание, характеризующееся цикличностью течения и приступообразным спазматическим кашлем.

Цель занятия: овладеть навыком микробиологической диагностики инфекции.

Знать:

- биологию возбудителей;
- эпидемиологию заболевания;
- лабораторную диагностику.

Уметь:

- интерпретировать результаты лабораторных исследований;
- подобрать препараты для профилактики и терапии коклюша.

Раздел	Вопросы для изучения
Таксономия	Род <i>Bordetella</i> . Представители патогенные для человека: <i>B.pertussis</i> – возбудитель коклюша, <i>B.parapertussis</i> – возбудитель паракоклюша.
Биология возбудителя	<u>Морфологические и тинкториальные свойства:</u> бордетеллы – мелкие, Гр-палочки, неподвижны. Спор, капсул не образуют. <u>Культуральные признаки:</u> <i>B.pertussis</i> нетребовательна к питательным средам. Культивируется на картофельно-глицериновом агаре с кровью (среда Бордс – Жангу) и казеиново-угольном агаре (среда КУА). Рост медленный – 48-72 часа. Колонии мелкие, круглые, блестящие как капельки ртути. Ферментативная активность слабая: не расщепляют белки и углеводы, не восстанавливают нитраты, образуют каталазу.
Антигенная структура	В структуре <i>B.pertussis</i> выделено 12 антигенов. Основные из них:



	<ul style="list-style-type: none">- агглютиноген, расположен не поверхностно, не токсичен, индуцирует выработку антител, не имеющих защитного значения;- гемагглютинин, агглютинирует эритроциты человека и животных;- протективный – не обладает токсическими свойствами, вызывает синтез защитных антител;- нуклеопротеин – обладает свойствами аллергена.
Патогенность	<p><u>Факторы вирулентности:</u> Филаментозный гемагглютинин связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, с R3 - гликопротеиновым рецептором поверхности полиморфно-ядерных лейкоцитов и инициирует фагоцитоз Коклюшный токсин(токсин пертуссин)-S1 - субъединица пертуссина. АДФ - рибозирует мембранный белок Gi; токе активность фагоцитов и миграцию моноцитов. S2 - субъединица пертуссина, связывается гликолипидом поверхности клеток респираторного тракта; S3 - субъединица пертуссина связывается с ганглиозидами поверхности фагоцитов. Пили-адгезия к мерцательном у эпителию дыхательных путей Пертактин-адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей Аденилатциклаза - подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов. Дерматонекротоксин - повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных. Трахеальный токсин - пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка). Эндотоксин (липополисахарид) активизирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов.</p>
Эпидемиоло-гия, патогенез	<p>Болеют, в основном, дети в возрасте от трех месяцев до 5-7 лет. Источник заражения – больной или носитель. Путь передачи – воздушно-капельный. Патогенез: возбудитель заселяет слизистые дыхательных путей, токсическое действие компонентов его клеток приводит к раздражению нервных рецепторов, спазму мелких бронхов, голосовой щели, сосудов, судорогам скелетных мышц, постоянному раздражению дыхательного центра.</p>
Микробиоло-гическая диагностика	<p>Методы лабораторной диагностики: а) бактериологический; б) серологический; Взятие материала для бактериологического исследования производят двумя методами: а) методом кашлевых пластинок (открытую чашку Петри с КУА держат во время приступа кашля на расстоянии 10 см от лица ребенка в течении 8-10 кашлевых толчков); б) носоглоточным изогнутым тампоном. <u>Ход бактериологического исследования при коклюше:</u> <u>1 этап</u> – первичный посев на КУА. <u>2 этап</u> (через 72 часа) – учет роста, приготовление мазка из подозрительных колоний, постановка реакции агглютинации на стекле с коклюшной и паракоклюшной сыворотками, пересев на скошенный КУА для выделения чистой культуры. Выдается предварительный ответ.</p>



	<p>При отсутствии роста отрицательный ответ выдается после повторного помещения посева в термостат на 24-48 часов, т.е. на 5 суток. <u>3 этап</u> (через 5 суток от начала исследования).</p> <p>Изучение чистой культуры и ее идентификация проводится с целью дифференцировки коклюшной и паракоклюшной палочки по следующим тестам:</p> <p>а) изучение подвижности (подвижна <i>B.parapertussis</i>, неподвижна <i>B.pertussis</i>);</p> <p>б) рост на МПА (<i>B.pertussis</i> не растет, <i>B.parapertussis</i> растет);</p> <p>в) рост на среде с тирозином (<i>B.parapertussis</i> дает коричневый пигмент);</p> <p>г) определение уреазной активности (уреазу выделяет только <i>B. parapertussis</i>);</p> <p>д) остановка реакции агглютинации со специфической коклюшной сывороткой (реакция положительная с культурой <i>B. pertussis</i>).</p> <p>В качестве серологических реакций используют:</p> <p>а) реакцию связывания комплемента;</p> <p>б) РПГА (с эритроцитами коклюшным и паракоклюшным диагностикумами);</p> <p>в) РИФ (вспомните правила постановки и учета этих реакций).</p> <p>У переболевших – стойкий антибактериальный иммунитет.</p>
Специфическая профилактика	Активная иммунопрофилактика коклюша проводится вакцино АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийная столбнячная вакцина) с 3 месяца (вспомните к какому классу иммунопрепаратов относится АКДС и какой иммунитет формируется).
Этиотропная терапия	Антибиотики, коклюшный иммуноглобулин.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Общая характеристика и классификация бордетелл.
2. Антигенная структура и факторы патогенности возбудителя коклюша.
3. Источник инфекции, пути передачи, патогенез заболевания.
4. Методы лабораторной диагностики:
 - а) бактериологический: правило взятия материала, отличия возбудителя коклюша и паракоклюша;
 - б) серологический: реакции, применяемые для серологической диагностики коклюша.
5. Препараты для специфической профилактики и лечения коклюша.

Схема микробиологических исследований при коклюше

День исследования	Материал и метод исследования	
	бактериологический	серологический
	Мокрота, слизь из гортани (взятие в катаральный период коклюша)	Кровь (взятие в спазматический период при затяжных формах коклюша)



1 день	Посев исследуемого материала на плотные питательные среды (среда Борде-Жангу, молочно-кровяной агар с пенициллином, гидролизатно-казеиновая среда, казеиново-угольная среда)	1. Реакция связывания комплемента. 2. Реакция пассивной гемагглютинации. 3. Экспресс-диагностика РИФ.
3-5 день	Просмотр посевов. Изучение характера роста. Микроскопия мазков, окрашенный по Граму. Постановка реакции агглютинации на стекле с противокклюшной сывороткой.	
	Пересев подозрительных колоний на плотные питательные среды для выделения чистой культуры. Предварительный ответ.	
4-7 день	Микроскопия мазков, окрашенных по Граму. Изучение чистой культуры: посев на агар с тирозином, на среду с мочевиной для определения уреазы, постановка ориентировочной и развернутой реакции агглютинации.	
5-8 день	Учет результатов. Окончательный ответ.	

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Бактериоскопия мазков из культуры *B. pertussis*.
2. Изучение характера роста на плотной питательной среде коклюшных и паракоклюшных бактерий.
3. Ознакомление с препаратами для специфической профилактики и лечения коклюша.
В тетрадь записать схему микробиологических исследований при коклюше.

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Цель занятия: овладеть методами диагностики зоонозных инфекций.

Знать:

- основных возбудителей зоонозных инфекций;
- патогенез заболеваний;
- методы диагностики этих заболеваний.

Уметь:

- оценить результаты бактериологического, серологического и аллергического методов исследования;
- подобрать препараты для специфической профилактики и терапии данных инфекций.

К зооантропонозным инфекциям относятся заболевания, возбудители которых передаются человеку от животных. Они принадлежат к разным семействам и родам:

- возбудители чумы – *Yersinia pestis*;
- туляремии – *Francisella tularensis*;
- бруцеллеза – *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*;
- сибирской язвы – *Bacillus anthracis*.

Перечисленные бактерии отличаются высокой вирулентностью и вызывают особо опасные инфекционные заболевания.

Работа с данными бактериями проводится в специальных лабораториях с обязательным



соблюдением режима безопасности.

В данном методическом руководстве представлены: биология возбудителей, патогенез, методы лабораторной диагностики чумы, туляремии, бруцеллеза и сибирской язвы.

ЧУМА

Возбудитель чумы – *Yersinia pestis*

Чума представляет собой особо опасное заболевание, которое проявляется в следующих формах:

- 1) кожно-бубонной,
- 2) первично – и вторично – септической,
- 3) первично – и вторично легочной,
- 4) кишечной.

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<p>1. <u>Таксономия</u> Род <i>Yersinia</i> содержит 7 видов, среди которых <i>Yersinia pestis</i> – возбудитель чумы.</p> <p>2. <u>Основные биологические свойства:</u> <u>Морфологические</u> – граммотрицательные, полиморфные мелкие, неподвижные палочки с закругленными концами. Спор не образуют. В организме больного и при размножении на специальных средах образуют капсулу. Характерной морфологической особенностью является овоидная форма микроба и биполярная окрашиваемость, когда средняя часть клетки почти не окрашивается, а концы окрашены интенсивно.</p> <p><u>Культуральные:</u> палочки чумы – факультативные анаэробы размножаются на простых питательных средах. Оптимальная температура для их роста 25-30 градусов. В жидких питательных средах палочки чумы образуют пленку на поверхности, от которой опускаются вниз нити. На плотных средах образуют шероховатые R – формы колонии с неровным краем – “кружевной платочек”.</p> <p><u>Биохимические:</u> сбраживают некоторые углеводы с образованием кислоты.</p> <p><u>Антигенные свойства:</u> антигенная специфичность иерсиний связана с капсулами (вещество – F₁).</p>
Эпидемиология, патогенез заболевания	<p><u>Патогенность:</u> палочки чумы очень вирулентны для человека, грызунов (мыши, крысы, суслики и т.д.), для верблюдов. Возбудители чумы образуют токсин, который называется “мышиный яд”.</p> <p><u>Источник инфекции</u> – больные чумой грызуны (суслики, мыши, крысы, зайцы и т.д.), верблюды, а также больные люди легочной формой чумы.</p> <p><u>Путь передачи</u> – контактный, трансмиссивный (переносчики блохи), алиментарный, воздушно-капельный.</p> <p><u>Патогенез</u> Возбудитель чумы проникает в организм человека через слизистые оболочки, дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, через кожу. В зависимости от вирулентности микроба, места и пути его проникновения, а также состояние организма человека чума может развиваться по-разному, давая различные формы: кожно-бубонную, первично – и вторично легочную и кишечную.</p>



Схема лабораторной диагностики при чуме

Материал	Методы исследования	Результаты
Гной, мокрота, кровь и др.	1. Бактериоскопический Из исследуемого материала готовят мазки, окрашивают Граму или водным раствором метиленового синего.	Грамотрицательные палочки овоидной формы, окрашенные по полюсам.
	2. Бактериологический Исследуемый материал засеивают на чашки Петри с питательным агаром. Посевы выращивают при температуре 25-28 ⁰ С. Чистую культуру микроба идентифицируют по морфологии бактериальных клеток, характеру роста, антигенным и биохимическим свойствам, чувствительности к чумному бактериофагу. 3. Биологический Исследуемым материалом заражают морских свинок путем втирания в кожу живота. Экспресс – методы лабораторной диагностики. 1. Иммунофлюоресцентный метод Исследуемый материал наносят на предметное стекло, обрабатывают люминисцентной противочумной сывороткой и учитывают результат с помощью люминисцентного микроскопа. 2. РПГА (реакция пассивной гемагглютинации) применяется для обнаружения антигенов бактерий чумы в исследуемом материале с помощью стандартной противочумной сыворотки, антитела которой нагружены на эритроцитах.	Через 10-12 часов появляются R – формы колонии, в виде “кружевного платочка”. Иерсинии чумы ферментируют углеводы только до кислоты, индола не образуют, желатин не расщепляют, лизируя чумным бактериофагом агглютинируются диагностическими, иммунными противочумными сыворотками. На 3-7 день морская свинка погибает, ее вскрывают и делают мазки – отпечатки из паренхиматозных органов. На темном фоне зеленое свечение возбудителя чумы. Если реакция положительная, эритроциты склеятся и выпадут в осадок в виде “зонтика”. При отрицательной реакции эритроциты оседают на дно в виде “пуговики”.



Лечение и профилактика	Лечение проводят стрептомицином и противочумным γ -глобулином. Специфическую профилактику проводят живой вакциной (штамм EV).
------------------------	--

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Возбудитель чумы, источник, инфекции, пути передачи, клинические формы.
2. Методы лабораторной диагностики чумы (микроскопический, бактериологический, биологический, ускоренный).
3. Лечение и профилактика чумы.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Познакомиться со схемой исследования при диагностике чумы и записать ее.
2. Микроскопировать и зарисовать готовые мазки из исследуемого материала, поставить предварительный диагноз, наметить ход дальнейшего исследования.
3. Изучить лечебно-профилактические препараты при чуме.

СИБИРСКАЯ ЯЗВА

Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis*

Сибирская язва – острая зоонозная инфекция. Ею болеют животные и люди.


Раздел	Вопросы для обсуждения
Биология возбудителя	<ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Таксономия</u> <i>Bacillus anthracis</i> относят к семейству Bacillaceae. 2. <u>Основные биологические свойства</u>: <u>Морфологические</u> – грамположительная, крупная, неподвижная палочка, располагается цепочкой. В организме больных образует капсулу, в почве – споры. <u>Культуральные</u> – в жидкой питательной среде растет в виде рыхлого осадка, на плотной среде – образует колонии R – формы и под малым (объектив в) увеличением микроскопа колонии имеют вид “львиной гривы” или “голова медузы”.
Эпидемиология	<p><u>Биохимические</u>: разлагают глюкозу и мальтозу с образованием кислоты, разжижает желатину (в виде елочка верхушкой вниз).</p> <p><u>Антигенные свойства</u>: сибиреязвенные бациллы имеют 2 антигена – капсульный (белковой природы), расположенный в капсуле и соматический (полисахаридной природы), который находится в клеточной стенке. Соматический антиген, в отличие от капсульного, термостабильный (не разрушается при кипячении).</p> <p><u>Патогенность</u>: сибиреязвенные бациллы образуют токсин, который состоит из 3 компонентов: I – “отечный фактор”, II – летальный токсин, III – протективный антиген. Патогенность возбудителя обеспечивается также и капсулой.</p> <p>Источник инфекции – крупный и мелкий рогатый скот: лошади, свиньи, олени, верблюды. Они заражаются алиментарным путем, поглощая вместе с кормами споры возбудителя. Возможен перенос возбудителя кровососущими насекомыми (слепни, мухи-жигалки).</p>



Патогенез	Человек заражается от больных животных при непосредственном контакте, а также через изделия из шерсти), мясо больных животных. Сибирская язва у человека проявляется в 3-х клинических формах: кожной (в месте локализации возбудителя образуется карбункул), кишечной (жидкий стул с кровью), легочной (тяжелая бронхопневмония).
-----------	--

Схема лабораторной диагностики

Материал	Метод исследования	Результаты
Мокрота, отделяемое, карбункул, отечная жидкость, кровь, фекалии, мо-ча.	<p>1. <u>Бактериоскопический</u> Готовят мазки, окрашивают по Граму.</p> <p>2. <u>Бактериологический</u> Исследуемый материал засевают на чашки с питательным агаром и в пробирку с бульоном. Выделяют чистую культуру и ее идентифицируют.</p> <p>3. <u>Биопроба</u> Исследуемый материал вводят подкожно белым мышам.</p> <p>4. <u>Экспресс-диагностика:</u> а) Реакция Асколи ставится для определения зараженности сырья (кожа, мех, шерсть, трупный материал животного). Образцы исследуемого материала измельчают и кипятят 5-10 минут, затем фильтруют и осторожно добавляют в пробирку с сибиреязвенной сывороткой. б) Метод иммунофлюоресценции позволяет выявить капсульные формы <i>Bac. anthracis</i> в экссудате. Мазки обрабатывают люминисцентной сибиреязвенной сывороткой.</p> <p>Для лечения сибирской язвы используют противосибиреязвенный глобулин и антибиотики. Специфическая профилактика проводится живой вакциной СТИ. Вакцинируют животных и людей.</p>	<p>Грамположительные стрептобациллы, окруженные капсулой.</p> <p>Смотри культурные свойства возбудителя, биохимическую активность.</p> <p>Павшее животное вскрывают, готовят мазки из крови и внутренних органов, затем делают посевы для выделения чистой культуры возбудителя.</p> <p>При положительной реакции Асколи в пробирке идет реакция преципитации в виде белого кольца. Реакция идет между термостабильным сибиреязвенным соматическим антигеном и антителами сибиреязвенной сыворотки.</p> <p>В препаратах под люминисцентным микроскопом наблюдается желто-зеленое свечение возбудителя.</p>

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 221 -</p>
--	---	---	----------------

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Возбудитель сибирской язвы, источник инфекции, пути передачи, клинические формы.
2. Методы лабораторной диагностики сибирской язвы (микроскопический, бактериологический, биохимический, экспресс-диагностика).
3. Лечение и профилактика сибирской язвы.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Микроскопия и зарисовка готовых препаратов *Vac. anthracis* в культуре и в органах, окрашенных по Граму.
2. Изучение колонии спорового аэроба (*Vac. cereus*) под малым (объектив 8) увеличением микроскопа. Зарисовка.
3. Постановка реакции Асколи.
4. Изучение лечебно-профилактических препаратов при сибирской язве.

Выполненную работу и полученные результаты оформить в виде протокола по схеме:

Дата	Что сделано	Результаты исследования
1 день	Микроскопия материала	
2 день	Бактериологическое исследование	
3 день	Серологическая р. Асколи	

ТУЛЯРЕМИЯ

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Таксономическое положение</u>: род <i>Francisella</i>, вид <i>F. tularensis</i>. 2. <u>Морфолого-тинкториальные свойства</u>: Гр.- - коккобактерии мелкие, неподвижные, образуют капсулы, нет спор. 3. <u>Тип дыхания</u> – аэробы 4. <u>Культуральные свойства</u>: не растут на простых питательных средах, на желточном агаре рост в виде бесцветного нежного налета, на кровяном агаре – беловатые колонии, гладкие с ровным краем (как жемчуг) на 2-5 день (иногда через 10-12). 5. <u>Биохимические свойства</u>: расщепляет глюкозу, мальтозу, маннит до кислоты. Наиболее распространены 2 биовара: <i>F. tularensis holotactica</i>, <i>F. tularensis mediasiatica</i>. 5. <u>Антигены</u>: ВИ –А и О-А-Т
Эпидемиология	<ol style="list-style-type: none"> 6. <u>Факторы вирулентности</u>: капсула, эндотоксин, нейраминидаза. 7. <u>Источник инфекции</u> – могут быть кровососущие и членистоногие. 8. <u>Пути передачи</u> – контактный, контактно-бытовой, алиментарный, трансмиссивный, воздушно-пылевой. 9. <u>Инкубационный период</u> – 3-7 дней. 10. <u>Особенности инфекции</u>: это особо опасная зоонозная инфекция с природной очаговостью, характерна высокая восприимчивость к ней людей, тяжесть течения болезни. Возбудитель способен проникать через неповрежденную кожу и слизистые оболочки. В процессе заболевания развивается выраженная клеточная



<p>Иммунитет Патогенез</p>	<p>аллергия замедленного типа (РЗТ) и сохраняется длительные годы. Гуморальный и клеточный, высоконапряженный. Проникает через неповрежденную кожу и слизистые оболочки, попадает в регионарные лимфоузлы, не вызывает воспаления, прорывает лимфатические барьеры, проникает в кровь и таким образом разносится в паренхиматозные органы, где размножается (вторичные очаги локализации). Бубонная, язвенно-бубонная, легочная, абдоминальная, генерализованная.</p>
<p>Клинические формы Микробиологи-ческая диагностика</p>	<p><u>Основные методы диагностики</u> <u>Бактериологический</u>: заражение морских свинок для получения чистой культуры. <u>Серологический</u> (ретроспективный) – с 3 недели: РИФА, ориентировочная реакция. <u>Иммуноидикация</u>: РИФА, РИФ, РИЛ, РПГА, с АТ – эритроцитарным диагностикумом и ее разновидность. <u>Аллергический</u> – в/к диагностическая аллергическая проба с тулярином с 3-5 дня болезни (положительная у больных переболевших и вакцинированных). <u>Методы генетического анализа</u> (ДНК-зондирование). <u>Активная иммунопрофилактика</u> для создания активного антибактериального иммунитета проводится живой туляремийной вакциной или химической вакциной и протективным туляремийным антигеном.</p>
<p>Специфическая профилактика и терапия</p>	<p><u>Средства этиотропной терапии</u> – антибиотики (хлорамфеникол, тетрациклин, стрептомицин).</p>

Схема микробиологических исследований при туляремии

День исследования	Метод
	<p>Ускоренный кровь (с 1-го дня) Постановка кровяно-капельной реакции</p>
<p>1 – й 2 – й 3 – й 4 – й</p>	<p>Бактериологический содержимое бубона, кровь, мокрота, гной из глаза, зева, соскоб язвы (с 3-4-го дня). Посев на яично-желточную среду, глюкозоцистиновый агар. Изучение роста, микроскопия колоний. Постановка развернутой реакции агглютинации со специфической туляремийной сывороткой. Учет реакции. Ответ.</p>



	Серологический
	сыворотка крови со второй недели
1 – й	Постановка развернутой реакции агглютинации с туляремийным диагностикумом.
2 – й	Учет реакции. Ответ.
	Биологический
	Органы трупов, мокрота, отделяемое язвы, конъюнктивы глаза.
1 – й	Заражение морской свинки или белой мыши.
2 – й	Вскрытие трупов. Микроскопия окраска по Граму, Романовскому-Гимзе. Посев из органов на среды.
3 – й	Изучение характера роста. Микроскопия колоний.
4 – й	Реакция развернутой агглютинации. Учет реакции. Ответ.
	Аллергический
	постановка пробы с 3-5 дня заболевания
1 – й	Внутрикожное или накожное введение тулярина.
2 – й	Учет реакции через 24-48 часов.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Возбудитель туляремии. Биологические свойства *Francisella tularensis*.
2. Методы лабораторной диагностики туляремии: бактериологический, серологический и биологический.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Микроскопия окрашенных мазков с туляремийными бактериями.
2. Постановка и предварительный учет реакции агглютинации (РА) для диагностики туляремии.
3. Техника постановки аллергических проб.

БРУЦЕЛЛЕЗ

Раздел	Вопросы для изучения
Биология возбудителя	<ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Таксономическое положение</u>: род <i>Brucella</i>, виды, вызывающие заболевание и у животных и у человека. <i>B. melitensis</i>, <i>B. suis</i>, <i>B. abortus</i> 2. <u>Морфолого-тинкториальные свойства</u>: Гр-коккобактерии или короткие палочки, неподвижны. Спор нет. Могут образовывать капсулу. 3. <u>Тип дыхания</u> – аэробы. 4. <u>Культуральные свойства</u>: растут на простых питательных средах. Элективными средами являются печеночный бульон и печеночный агар. 5. <u>Биохимические свойства</u>: биохимически инертны, но обладают каталазой и уреазой. Требователен к CO₂ при первой генерации роста, продукции H₂S и чувствительности к анилиновым красителям, дифференцируются на виды. 6. <u>Антигены</u>: видоспецифические А, М, G, R дополнительный термостабильный VI-АГ.



<p>Эпидемиология, патогенез, клиника</p>	<p>7. <u>Факторы вирулентности</u>: капсула (у капсульных штаммов) эндотоксин, гиалуронидаза. 8. <u>Источник инфекции</u> – больной крупно – и мелкорогатый скот, свиньи (от людей передается). 9. <u>Пути передачи</u>: алиментарный, контактно-бытовой. 10. <u>Инкубационный период</u> – 1-3 недели. 11. <u>Это зоонозная инфекция</u>. Относят ее к особо опасным инфекциям, т.к. возбудитель способен проникнуть через неповрежденную кожу и слизистые оболочки. В клинике преобладает вялое затяжное течение, характерно развитие ГЗТ. В процессе инфекции формируется перекрестный для разных видов бруцелл, клеточный нестерильный инфекционный иммунитет. Постинфекционный иммунитет недостаточно напряженный. 12. <u>Патогенез</u>: возбудители проникают через кожу, слизистые, желудочно-кишечный тракт и попадают в регионарные лимфоузлы, прорывают лимфатический барьер и выходят в кровь, током крови заносятся в костный мозг, селезенку, почки, печень. 13. <u>Клинические формы</u>: острая и хроническая (хрониосепсис) может быть латентная, по тяжести – тяжелые, легкие, бессимптомные.</p>
<p>Микробиологическая диагностика Иммуноиндикация Аллергический Специфическая терапия и профилактика</p>	<p>14. <u>Основные методы диагностики</u>: <u>Бактериологический</u> – материал для исследования: кровь, костный мозг, моча (реже ликвор, синовиальная жидкость). <u>Серологический</u> – РПГА, диагностическая реакция агглютинации (реакция Райта), реакция Кумбса по обнаружению неполных АГ, ориентировочный метод – реакция Агглютинации на стекле Хеддельсона. РИФ, РИФА, РНАГ. в/к проба Бюрне с бруцеллином ставится с 1-2 недели заболевания, положительная при хронических, латентных формах и у вакцинированных лиц. 15. <u>Этиотропная терапия</u>: острая форма – лечение сульфаниламидными препаратами и антибиотиками (хлорамфениколом и аминогликозидами), хронические формы – иммунотерапия лечебной убитой бруцеллезной вакциной. 16. <u>Специфическая профилактика</u> – активная иммунопрофилактика живой вакциной для создания активно антибактериального нестерильного иммунитета.</p>

Схема микробиологического исследования при бруцеллезе

День исследования	Метод
	<p>Бактериологический кровь, грудное молоко, желчь, испражнения первые дни лихорадочного состояния.</p>
1 –ый	<p>Посев на печеночный бульон (кровь, молоко) или агар, или в желточный мешок куриного эмбриона. Инкубация в атмосфере с 10% углекислого газа CO₂ для выделения (рост 1-4 недели).</p>
2 –ой	<p>Изучение характера роста. Микроскопия колоний. Окраска по Граму.</p>



3 -ий	Постановка ориентировочной реакции агглютинации на стекле со специфической агглютинирующей сывороткой. Посев на пестрый ряд. Проведение дифференцировки видов бруцеллы по образованию сероводорода, чувствительности к основному фуксину, тионину и определение их потребности в углекислоте. Учет ферментативных свойств. Ответ.
	Серологический. Сыворотка крови с 10-12-го дня. 1. Постановка реакции Райта с бруцеллезными диагностикумами. 2. Постановка реакции агглютинации Хеддельсона с концентрированным диагностикумом, окрашенным синькой. Ответ в течение 2-3 мин. Учет реакции Райта. Ответ.
	Аллергический. Внутрикожная проба с алергином (15-20-день болезни). Введение на ладонную поверхность предплечья 0,1 мл бруцеллина. Учет реакции через 6-8 часов.
	Опсонофагоцитарная проба кровь на 15-20 –й день.
	Биологический
	Заражение мышей или морских свинок в паховую область. Вскрытие через 20-30 дней, проведение бактериологического исследования.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Режим работы с особо опасными микроорганизмами.
2. Биологическая характеристика бруцеллеза.
3. Лабораторная диагностика бруцеллеза.
4. Специфическая профилактика бруцеллеза.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Микроскопия окрашенных мазков с бруцеллами.
2. Постановка и учет реакции Райта и Хеддельсона.
3. Техника постановки аллергических проб для диагностики бруцеллеза.
4. Изучение препаратов, применяемых для диагностики, лечения и профилактики бруцеллеза.

Постановка реакции Райта (схема)

Компонент	1	2	3	4	5	Контроль сыворотки	Контроль диагностикума
Физиологический раствор	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Сыворотка больного в разведении 1:25	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 226 -</p>
--	---	---	----------------

Бруцеллезный диагностикум (мл)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		0,5
Окончательное раз- ведение сыворотки	1:50	1:10 0	1:20 0	1:40 0	1:80 0		
Заключение:							

**ВОЗБУДИТЕЛИ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ. ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА.
ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ. МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ:
ОСОБЕННОСТИ ВЗЯТИЯ, ХРАНЕНИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ. ОБЩАЯ СХЕМА
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ**

Цель занятия:

- освоить принципы диагностики раневой инфекции;
- знать биологию возбудителей;
- причину возникновения раневой инфекции;
- освоить лабораторную диагностику.

Уметь:

- интерпретировать полученные результаты бактериологического исследования раневого отделяемого;
- оценить данные антибиотикограммы;
- назначить соответствующую терапию.

Раневая инфекция – процесс, возникающий в ране вследствие инвазии в нее патогенной микрофлоры при условии недостаточности защитных реакций поврежденных тканей. Инфекция развивается при инфицировании раны вирулентными, особенно госпитальными, штаммами, в окружающих тканях развивается гнойная инфекция. Инфицирование операционной раны чаще всего вызывается золотистым стафилококком, кишечной и синегнойной палочками, протеем, клебсиеллами.

Внегоспитальные раны (боевые, производственные, бытовые) инфицируются в момент ранения и после него. Микробы в них проникают с ранящим оружием, кусочками одежды, почвы, пыли, кожи. Кроме перечисленных в эти раны также возбудители гнойной анаэробной инфекции – клостридии.

Раздел	Вопросы для изучения
<p>Этиологическая структура раневой инфекции</p>	<p><u>Аэробы и факультативные анаэробы:</u> <i>Кокки:</i> St. aureus St. epidermidis Strep. pyogenes Enterococcus</p> <p><i>Палочки:</i> Escherichia Klebsiella Proteus Pseudomonas</p> <p><u>Анаэробы:</u> Clostridium perfringens</p>



	<p>Cl. septicum Cl. hystolyticum Cl. tetani Bacteroides Peptococcus Peptostreptococcus</p>
Биология возбудителя	<p>Аэробные представители – см. методические пособия по кишечным инфекциям и коккам</p> <p><u>Анаэробы:</u> Бациллы, образующие овальные или круглые споры, располагающиеся терминально, центрально или субтерминально.</p> <p>Clostridium perfringens – толстая, неподвижная палочка, образует капсулу.</p> <p><u>Тинкториальные свойства</u> – грамположительна.</p> <p><u>Культуральные свойства</u> – анаэроб.</p> <p><u>Биохимические свойства:</u> ферментирует: лактоза, сахароза до КГ. Створаживает молоко за 3-5 часов. Разжижает желатин.</p> <p><u>Вирулентность:</u> экзотоксин – гемолизин, некротоксин, летальный токсин, а также ферменты “агрессии”– гиалуронидаза, лецитиназа.</p> <p><u>Антигенные свойства:</u> 6 серологических типов: А, В, С, D, E, F.</p> <p>Clostridium novyi – полиморфная палочка (перитрих). На жидких средах образует осадок.</p> <p><u>Биохимическая активность:</u> расщепляет глюкозу до Г. Молоко свертывает медленно. Разжижает желатин.</p> <p><u>Вирулентность:</u> экзотоксин – летальные, некротические свойства, отечный и гемолитический токсин.</p> <p><u>Антигенное строение</u> : А, В, С серотипы</p> <p>Clostridium septicum: тонкая, длинная полиморфная палочка. Грамположительная. Перитрих.</p> <p><u>Культуральные свойства</u> – равномерное помутнение среды. Ферментирует глюкозу мальтозу до К и Г.</p> <p><u>Вирулентность:</u> экзотоксин с летальными, гемолитическими, некротическими свойствами.</p> <p>Clostridium hystolyticum Палочка, перитрих, споры расположены субтерминально или центрально.</p> <p><u>Культуральные свойства:</u> равномерное помутнение среды. Углеводы не ферментирует. Молоко не пептонизирует Гидролизует желатин.</p> <p><u>Вирулентность:</u> экзотоксин с некротическими, летальными и гемолитическими свойствами. Сильное протеолитическое действие. Характерен прогрессирующий некроз тканей, отек, газообразование в тканях и отравление токсинами возбудителя и продуктами распада</p>



Патогенез	тканей. Клостридии – некропаразит, благоприятной средой для его размножения служат мертвые и поврежденные ткани. В патогенезе различают 2 стадии: 1) образование отека; 2) развитие газовой гангрены. Антитоксический.
Иммунитет	<u>Цель исследования:</u> – доказать наличие возбудителя; – доказать наличие экзотоксина. <u>Методы диагностики:</u> 1. Микроскопический. 2. Бактериологический. 3. Биологический. – антибиотики; – антитоксические иммунные сыворотки; – специфический иммуноглобулин.
Лабораторная диагностика	<u>Активная:</u> анатоксин
Лечение	<u>Пассивная:</u> антитоксические сыворотки
Профилактика	

Схема лабораторной диагностики при раневой анаэробной инфекции

Материал	Метод исследования	Результат
– кусочки пораженной ткани – содержимое раны – кровь	1. <u>Микроскопический метод</u> 2. <u>Бактериологический метод</u> Посев исследуемого материала на тиогликолевую среду, молоко, среду Вильсона-Блера, кровяной агар. Изучить биохимические свойства (ферментация глюкозы, лактозы, сахарозы, ферментация молока, расщепление желатина). Идентификация токсина с помощью реакции нейтрализации с помощью специфических антитоксических сывороток.	

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Этиология раневой инфекции.
2. Биология возбудителя.
3. Патогенез газовой гангрены.
4. Лабораторная диагностика газовой гангрены.
5. Профилактика и лечение раневой газовой гангрены.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Бактериологическое исследование отделяемого раны.
2. Из отделяемого раны приготовить мазок, окрасив по методу Грама, микроскопировать, наметить ход исследования.
3. Провести посев отделяемого раны на среду Вильсона-Блера, молоко и тиогликолевую среду.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 229 -</p>
--	---	---	----------------

4. Оценить результаты посевов на тиогликолевую и Вильсона-Блера средах, а также молоко.
Микроскопия препаратов.
Сделать заключение.

ВОПРОСЫ К КОЛОККВИУМАМ:

№	Вопросы для текущего и рубежного контроля	Проверяемые компетенции
1.	<p align="center">«МОРФОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»</p> <p>История и этапы развития микробиологии, роль отечественных и зарубежных ученых в становлении микробиологии как науки. Классификация и номенклатура микроорганизмов. Микробиологическая лаборатория, ее оборудование. Правила техники безопасности при работе с газом, живыми микроорганизмами. Микроскопический метод исследования. Определение, виды микроскопии. Устройство микроскопа. Понятие «сухой объектив» и «иммерсионная система». Правила пользования иммерсионной системой. Морфология бактерий, определение, классификация. Этапы приготовления микропрепаратов из культур микробов. Способы окраски. Простой метод окраски, определение, техника и назначение. Строение бактериальной клетки, основные структурные элементы. Отличия прокариотической клетки от эукариотической. Строение и функции клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Способы обнаружения оболочки у бактерий. Сложные методы окраски бактерий, их применение. Окраска по Граму, техника, назначение. Отличия грамотрицательных и грамположительных бактерий. Характеристика нуклеоида бактерий, способ выявления. Цитоплазма бактерий, ее структура, функциональное назначение, основные включения. Гранулы волютина, характеристика, метод окраски. Капсула бактерий, функции, способы выявления. Спорообразование у бактерий, метод окраски спор. Жгутики бактерий, метод их обнаружения. Способы изучения подвижности бактерий: методика приготовления препаратов «висячая капля» и «раздавленная капля». Строение и способы изучения актиномицетов. Морфология спирохет, способы их изучения. Морфология грибов: классификация, строение и методы изучения. Морфология хламидий, способы их изучения.</p>	<p>ОК – 1, ПК– 3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11</p>



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Основная профессиональная образовательная программа высшего образования
Педиатрия
Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета)
Рабочая программа «Микробиология, вирусология»
Методические указания для обучающихся

- 230 -

	<p>Морфология микоплазм, способы их изучения. Морфология риккетсий, методы культивирования. Типы питания бактерий: аутотрофы, гетеротрофы, фототрофы, хемотрофы, прототрофы и ауксотрофы. Механизмы транспорта веществ в клетку. Биологическое окисление у аэробных и анаэробных бактерий. Условия культивирования микроорганизмов и фазы развития роста и размножения. Питательные среды, классификация и характеристика. Требования, предъявляемые к питательным средам. Культуральные свойства микроорганизмов, рост в жидких и на плотных питательных средах. Понятие о чистой культуре, методы выделения чистых культур аэробных микроорганизмов. Методы культивирования анаэробов. Методы выделения чистых культур анаэробных микроорганизмов. Бактериологический метод исследования и его этапы Биохимическая активность микроорганизмов: ферменты, их биологическое значение в обмене веществ и метаболизме. Классификация ферментов. Определение сахаролитических свойств микроорганизмов. Среда Гисса, Ресселя, их состав, постановка и учет результатов. Определение протеолитических свойств микроорганизмов: среды, постановка и учет результатов. Определение редуцирующей способности микроорганизмов. Значение ферментов каталазы, оксидазы и фосфатазы в идентификации микроорганизмов. Вирусы – определение и основные свойства. Классификация вирусов. Строение и химический состав вирусов. Продуктивная форма взаимодействия вируса с клеткой (репродукция). Интегративная форма взаимодействия вируса с клеткой. Абортивная форма взаимодействия вируса с клеткой. Методы культивирования вирусов. Признаки индикации и идентификации вирусов. Методы диагностики вирусных инфекций.</p>	
2.	<p>«Генетика микроорганизмов. Санитарная микробиология. Воздействие физических и химических факторов. Действие биологических факторов на микроорганизмы. Нормальная микрофлора организма человека, ее значение. Формирование микрофлоры у детей. Дисбактериоз, условия развития, профилактика». Определение понятий «генотип» и «фенотип». Генетический аппарат бактерий. Внехромосомные факторы наследственности: плазмиды – их локализация, виды и функциональная роль.</p>	ОК – 1, ПК– 3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11



Внехромосомные факторы наследственности: транспозоны и IS-последовательности – их локализация и функциональная роль.
Формы изменчивости микроорганизмов – мутации: определение, классификация, типы и виды.
Формы изменчивости микроорганизмов – модификационная: определение, типы и виды.
Способы репарации и их характеристики.
Формы рекомбинации: гомологичная, сайт-специфическая, незаконная.
Конъюгация у бактерий: условия, механизм.
Трансдукция у бактерий: условия, типы и механизмы.
Трансформация у бактерий: условия и механизм.
Практическое значение генной инженерии в современной медицине и биотехнологии.
Микрофлора воздуха. Микробное число, методы определения, санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.
Микрофлора воды. Показатели фекального загрязнения, микробное число, определение.
Санитарно-показательные микроорганизмы воды. Коли-титр, коли-индекс.
Методы определения коли-титра и коли-индекса воды. Санитарно-гигиенические нормы для водопроводной воды.
Микрофлора почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы, микробное число почвы, методы определения.
Микрофлора пищевых продуктов молока и молочных продуктов. Санитарные показатели и методы их определения
Характеристика влияния физических факторов на микроорганизмы.
Влияние химических факторов на микроорганизмы.
Понятие о стерилизации. Методы стерилизации.
Подготовка лабораторной посуды к стерилизации.
Понятие о дезинфекции. Классификация антисептиков по механизму действия и химической природе.
Требования к дезинфицирующим веществам.
Понятие об асептике и антисептике.
Химиотерапия. Определение, классификация химиотерапевтических препаратов. Химиотерапевтический индекс.
Антибиотики. Определение, классификация и характеристика основных групп, единицы активности.
Механизмы антимикробного действия.
Осложнения при химиотерапии.
Лекарственная устойчивость микроорганизмов. Определение, механизмы, виды. Методы преодоления лекарственной устойчивости бактерий.
Принципы рациональной химиотерапии.
Методы определения чувствительности микробов к антибиотикам.
Характеристика фитонцидов и бактериоцинов.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Основная профессиональная образовательная программа высшего образования
Педиатрия
Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета)
Рабочая программа «Микробиология, вирусология»
Методические указания для обучающихся

- 232 -

	<p>Понятие «биоценоз». Понятие «факультативные и облигатные микроорганизмы». Формирование микрофлоры человека, у детей. Различные виды симбиотических взаимоотношений. Микрофлора кожи и слизистых оболочек. Микрофлора дыхательных путей. Микрофлора полости рта. Микрофлора желудочно-кишечного тракта. Микрофлора мочеполовой системы. Значение нормальной микрофлоры. Дисбактериоз.</p>	
3.	<p>«Учение об инфекции. Прикладная иммунология. Факторы и механизмы неспецифической противoinфекционной защиты организма. Факторы специфического иммунитета. Факторы специфического иммунитета. Серологический метод исследования. Иммунобиологические препараты: вакцины, сыворотки» Инфекция - определение, виды инфекций. Инфекционный процесс, условия его возникновения. Инфекционная болезнь. Отличия инфекционного заболевания от соматического. Стадии инфекционного заболевания. Роль микроба в возникновении инфекции. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности микроорганизмов. Понятие об адгезивности, инвазивности, агрессивности, токсигенности. Характеристика токсинов (экзотоксинов и эндотоксинов). Классификация экзотоксинов по механизму действия. Получение анатоксина. Характеристика ферментов инвазии, способы их обнаружения. Биологический метод исследования, его цель и этапы. Иммунитет, определение; виды иммунитета. Факторы неспецифической резистентности. Барьерные факторы видового иммунитета (кожа, слизистые). Клеточные факторы видового иммунитета. Учение о фагоцитозе. Стадии и виды фагоцитоза. Показатели оценки (фагоцитарный показатель и опсонический индекс). Гуморальные факторы неспецифической резистентности. Иммунная система организма человека Определение понятия «антиген». Условия антигенности, виды антигенов. Антигены микробной клетки. Классификация и характеристика иммуноглобулинов, строение, свойства. Взаимодействие антител с антигенами. Механизмы иммунного ответа. Понятие «сероидентификация» и «серодиагностика», основные ингредиенты и их получение. Условия, фазы и требования к серологическим реакциям.</p>	<p>ОК – 1, ПК– 3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11</p>



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Основная профессиональная образовательная программа высшего образования
Педиатрия
Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета)
Рабочая программа «Микробиология, вирусология»
Методические указания для обучающихся

- 233 -

	<p>Реакции иммунного лизиса: ингредиенты, способы постановки. Реакция бактериолиза. Феномен Исаева-Пфейффера. Реакция гемолиза. РСК компоненты. РСК механизм, применения. РИФ, цель применения. Используемые красители. Непрямой метод РИФ. Прямой метод РИФ. Радиоиммунный анализ. Твердофазный иммунно-ферментный анализ. Иммуноблоттинг. Реакция агглютинации. Виды агглютинации, методы постановки реакции. Практическое использование. Реакция преципитации, механизм. Методы постановки, практическое применение. Вакцины. Определение. Современная классификация. Аутовакцины. Получение и применение. Требования, предъявляемые к вакцинным препаратам. Живые вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки Инактивированные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки. Генно-инженерные вакцины. Получение, применение. Достоинства и недостатки. Анатоксины. Определение, получение, применение. Виды анатоксинов. Лечебные и диагностические сыворотки. Получение, применение. Классификация сывороток. Гамма-глобулины. Принципы получения, применение.</p>	
4.	<p>«Возбудители бактериальных кишечных инфекций» Основные задачи и цели частной микробиологии. Этиологическая структура инфекционных заболеваний. Материал для исследования – классификация, требования и оформление. Методы микробиологической диагностики. Показания к бактериологическому исследованию различных биосубстратов человека. Классификация и общая характеристика возбудителей острых кишечных инфекций. Методы лабораторной диагностики острых кишечных инфекций. Лечение и профилактика острых кишечных инфекций. Классификация возбудителей дизентерии и их микробиологическая характеристика. Эпидемиология, патогенез и клиника дизентерии. Лабораторная диагностика дизентерии. Препараты для лечения и профилактики дизентерии. Биологические свойства возбудителей кишечных эшерихиозов. Эпидемиология, патогенез и клиника эшерихиозов.</p>	<p>ОК – 1, ПК–3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11</p>



	<p>Микробиологическая диагностика эшерихиозов. Специфическое лечение и профилактика эшерихиозов. Характеристика возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В. Эпидемиология, патогенез и клиника брюшного тифа и паратифов А и В. Методы лабораторной диагностики брюшного тифа и паратифов А и В в различные сроки заболевания (бактериологический и серологический). Лечение и профилактика брюшного тифа и паратифов А и В. Характеристика возбудителей сальмонеллезов. Эпидемиология, патогенез и клиника различных форм сальмонеллезов. Роль энтеротоксинов в возникновении диарейного синдрома Методы лабораторной диагностики сальмонеллезов. Лечение и профилактика сальмонеллезов. Классификация вибрионов. Биология возбудителей. Эпидемиология, патогенез и клиника холеры. Методы лабораторной диагностики холеры. Бактериологический метод исследования холеры. Серологический метод и биологическая проба. Ускоренная диагностика холеры. Лечение и профилактика холеры.</p>	
5.	<p>«Патогенные кокки. Возбудители дифтерии и коклюша. Возбудители туберкулеза и лепры» Патогенные кокки - общая характеристика, таксономия. Грамположительные кокки. Стафилококки: морфология, тинкториальные, культуральные и антигенные свойства. Биохимические свойства, токсины и ферменты «агрессии». Способы обнаружения токсинов и ферментов «агрессии». Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций. Материал для исследования (при гнойных инфекциях, при заболеваниях, протекающих по типу пищевых токсикоинфекций). Препараты, применяемые для профилактики и лечения стафилококковых инфекций. Общие сведения о стрептококковых инфекциях (сепсис, эндокардит, скарлатина, пневмонии и др.). Клиническая картина, носительство, острые стрептококковые инфекции. Характеристика возбудителей (морфологические, тинкториальные, культуральные свойства). Токсины и ферменты стрептококков. Классификация стрептококков по гемолитическому признаку и антигенной структуре. Техника взятия материала из зева, носа и кожных поражений для исследования. Лабораторная диагностика стрептококковых заболеваний. Идентификация стрептококков и пневмококков, дифференциация с энтерококками.</p>	ОК – 1, ПК–3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11



	<p>Методы лечения и профилактики стрептококковой инфекции. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства менингококков. Токсины и ферменты агрессии менингококков. Заболевания человека, вызываемые менингококками, значение бактерионосительства. Лабораторная диагностика менингококковых заболеваний. Специфическая профилактика и лечение менингококковых заболеваний. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства гонококков. Токсины и ферменты агрессии гонококков. Заболевания, вызываемые гонококками. Лабораторная диагностика острой гонореи. Лабораторная диагностика хронической гонореи. Специфическая профилактика и лечение гонококковых заболеваний. Общая характеристика и классификация коринебактерии. Источник заражения, пути передачи инфекции, патогенез заболевания. 3 Материал для исследования, методы лабораторной диагностики. Бактериологический метод исследования дифтерии. Характеристика экзотоксина и метод определения токсигенности дифтерийной палочки. Специфическая профилактика и терапия дифтерии. Общая характеристика и классификация бордетелл. Антигенная структура и факторы патогенности возбудителя коклюша. Источник инфекции, пути передачи, патогенез заболевания. Методы лабораторной диагностики. Правила взятия материала; реакции, применяемые для серологической диагностики коклюша. Отличия возбудителя коклюша и паракоклюша. Препараты для специфической профилактики и лечения коклюша. Таксономическое положение и общая характеристика возбудителей туберкулеза. Этиопатогенез туберкулеза. Особенности иммунитета при туберкулезе. Специфическая профилактика туберкулеза. Аллергические пробы, применяемые при туберкулезе. Особенности микроскопического исследования при туберкулезе. Метод микрокультур Прайса, корд-фактор. Бактериологическое и биологическое исследование при туберкулезе. Биологические свойства возбудителя лепры. Этиопатогенез и иммунитет при лепры. Лабораторная диагностика лепры, лечение и профилактика.</p>	
6.	«Зооантропонозные инфекции. Возбудители анаэробных инфекций. Спирохетозы»	ОК – 1, ПК– 3, ПК-5, ПК-




	<p>Общая характеристика возбудителя чумы. Этиопатогенез чумы, клинические формы. Методы лабораторной диагностики чумы, специфическая профилактика чумы. Общая характеристика возбудителя сибирской язвы. Этиопатогенез сибирской язвы. Методы лабораторной профилактики сибирской язвы, специфическая профилактика. Общая характеристика возбудителей бруцеллеза. Этиопатогенез бруцеллеза, иммунитет. Методы лабораторной диагностики бруцеллеза, серологические реакции, применяемые при бруцеллезе. Общая характеристика возбудителя туляремии. Этиопатогенез туляремии, иммунитет. Методы лабораторной диагностики туляремии. Таксономическое положение, общая характеристика патогенных анаэробов. Общая характеристика возбудителей газовой гангрены. Лабораторная диагностика раневой анаэробной инфекции (газовой гангрены). Специфическая профилактика и лечение газовой гангрены. Общая характеристика возбудителя столбняка. Лабораторная диагностика столбняка. Специфическая профилактика и лечение столбняка. Общая характеристика возбудителя ботулизма. Лабораторная диагностика ботулизма. Специфическая профилактика и лечение ботулизма. Характеристика возбудителя сифилиса: биологические свойства, резистентность. Этиопатогенез сифилиса. Особенности иммунитета. Лабораторная диагностика сифилиса. Характеристика возбудителей клещевого и вшивого возвратных тифов: биология и экология бореллий. Этиопатогенез возвратных тифов. Клинические проявления. Лабораторная диагностика бореллиозов. Биологическая характеристика лептоспир. Резистентность, этиопатогенез заболевания. Лабораторная диагностика лептоспирозов.</p>	<p>16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11</p>
7.	<p>«Практические навыки»</p> <ol style="list-style-type: none">1. Метод окраски по Бурри-Гинсу: назначение, техника окраски, результат.2. Метод окраски по Циль-Нильсену: назначение, техника окраски, результат.3. Метод окраски по Нейссеру: назначение, техника окраски, результат.4. Метод окраски по Граму: назначение, техника окраски, результат.	<p>ОК – 1, ПК– 3, ПК-5, ПК-16, ПК-20, ОПК –1, ОПК-11</p>



5. Методы обнаружения жгутиков и подвижности бактерий.
6. Бактериологический метод исследования - цель, этапы.
7. Биохимическая идентификация бактерий: питательные среды, постановка, учёт результатов.
8. Питательные среды: классификация, примеры, требования.
9. Методы культивирования вирусов, индикация и идентификация вирусов.
10. Методы культивирования и питательные среды для анаэробов.
11. Методы выделения чистой культуры анаэробов.
12. Методы выделения чистой культуры аэробов.
13. Методы физической стерилизации: назначение, режимы.
14. Механическая стерилизация - фильтрование: виды фильтров, назначение и применение.
15. Дезинфекция: определение, виды, классификация химических веществ.
16. Методы контроля стерилизации и дезинфекции.
17. Определение ОМЧ воздуха методом Коха.
18. Определение ОМЧ воздуха методом Кротова.
19. Определение коли-титра и коли-индекса воды методом мембранных фильтров.
20. Определение коли-титра и коли-индекса воды методом Эйкмана.
21. Метод определения ОМЧ и степени фекального загрязнения почвы.
22. Определение чувствительности к антибиотикам методом индикаторных дисков.
23. Определение чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений.
24. Характеристика и методы определения факторов патогенности микроорганизмов: коагулаза, лецитиназа, гиалуронидаза, гемолизин, фибринолизин, каталаза, фосфатаза, уреазы, некротоксин, летальный токсин, энтеротоксин.
25. Биологический метод исследования: цель, задачи, назначение, этапы.
26. Реакция агглютинации на стекле: назначение, постановка, ингредиенты, учёт результатов.
27. Реакция развернутой агглютинации: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.
28. Реакция пассивной гемагглютинации: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.
29. Реакция термокольцеприципитации: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.
30. Реакция диффузной преципитации в агаровом геле: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.
31. Реакция связывания комплемента: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.
32. Реакция иммунофлюоресценции: назначение, ингредиенты,

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 238 -</p>
--	---	---	----------------

<p>постановка, учёт результатов. 33. Полимеразная цепная реакция: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов. 34. Реакция нейтрализации вирусов: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов. 35. Реакция торможения гемагглютинации вирусов: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов. 36. Радиоиммунный анализ: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов. 37. Иммуноферментный анализ: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов. 38. Реакция иммунного блоттинга: назначение, ингредиенты, постановка, учёт результатов.</p>	
--	--

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 239 -</p>
--	---	---	----------------

Основная литература.

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология [Электронный ресурс] : учебник : в 2 т. Т. 1 / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко ; [авт. кол.: В. В. Зверев и др.]. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология [Мультимедиа] : учебник : в 2 т. Т. 2 / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 480 с. : ил. - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/>

Дополнительная литература.

1. Поздеев О. К. Медицинская микробиология [Электронный ресурс] : учебное пособие / О. К. Поздеев ; под ред. В.И. Покровского. - 4-е изд., испр. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 768 с. : ил. - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru>
2. Поздеев О. К. Медицинская микробиология [Текст] : учебное пособие для студентов мед. вузов / О. К. Поздеев ; под ред. В. И. Покровского. - 4-е изд., стер. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 765 с. : ил.
3. Сазыкин Ю. О. Биотехнология [Текст] : учеб. пособие по спец. 060108 (040500) "Фармация" / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чакалева ; под ред. А. В. Катлинского. - 3-е изд., стер. - М. : Академия, 2008. - 253, [2] с. : ил. - (Высшее профессиональное образование) (Медицина).
4. Мурадова Е. О. Микробиология [Текст] / Е. О. Мурадова, К. В. Ткаченко. - М. : Эксмо, 2011. - 336 с.
5. Донецкая Э.Г.-А. Клиническая микробиология [Электронный ресурс] : руководство / Донецкая Э.Г.-А. - М., 2011. - 480 с. – (Библиотека врача-специалиста). - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/>
6. Бухар М. Популярно о микробиологии [Электронный ресурс] / Бухар М. - М. : Альпина нон-фикшн, 2012. - 218 с. - Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/>
7. Изменение микробиоты кишечника при хронической алкогольной интоксикации в эксперименте [Текст] : учеб.-метод. пособие / Кнышова Л. П., Яковлев А. Т., Поройский С. В. и др. ; ВолгГМУ Минздрава РФ, ГБУ "ВМНЦ" . - Волгоград : Изд-во ВолгГМУ , 2018 . - 43, [1] с. : ил., табл.

	<p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>Основная профессиональная образовательная программа высшего образования Педиатрия Специальность 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета) Рабочая программа «Микробиология, вирусология» Методические указания для обучающихся</p>	<p>- 240 -</p>
--	---	---	----------------

3 7 100