

Министерство образования и науки РФ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
Ульяновский государственный университет  
Институт медицины, экологии и физической культуры

**Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова,  
М.Н. Артамонова**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ  
СТУДЕНТОВ К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ  
ПО МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ**

Учебное пособие

Часть 1

Ульяновск

2017

**УДК 579 (075)**  
**ББК 28.4 я 73**  
**П 64**

Печатается по решению Ученого совета  
Института медицины, экологии и  
физической культуры  
Ульяновского государственного  
университета

**Рецензент:**

доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных и кожно-  
венерических болезней

Ульяновского государственного университета

А.С. Нестеров

**Потатуркина-Нестерова Н.И., Немова И.С., Артамонова М.Н.**  
Методические рекомендации для студентов к лабораторным занятиям по  
микробиологии, вирусологии. Ульяновск, 2017. 74 с.

**УДК 579 (075)**  
**ББК 28.4 я 73**

Пособие содержит материалы по общей и частной микробиологии, включающие основные учебные темы для выполнения работы на занятии. Каждая тема включает цель, теоретическую справку, вопросы для подготовки, самостоятельные задания по теме. Самостоятельные практические работы включают решение ситуационных задач. Все работы имеют логическое завершение в виде схем протоколов, которые студент должен заполнить, сделать выводы с учетом направляющих вопросов. Внимание уделено и организации внеаудиторной самостоятельной работы студентов.

Рекомендации написаны в соответствии с действующей учебной программой и государственными образовательными стандартами для студентов по специальности «Лечебное дело» и «Педиатрия».

© Коллектив авторов, 2017  
© ФГБОУ ВО «УлГУ»

## ОГЛАВЛЕНИЕ

### *Раздел I. Общая микробиология*

- Тема 1.** Предмет и задачи микробиологии. Классификация и морфология бактерий. Микроскопический метод исследования. Стерилизация, дезинфекция. 4
- Тема 2.** Метаболизм микроорганизмов. Механизм питания и дыхания. 9  
Культивирование аэробных и анаэробных бактерий. Культурально-биохимический метод исследования.
- Тема 3.** Общая вирусология. Открытие вирусов, классификация. 18  
Бактериофаги. Практическое значение фагов в биологии и медицине. Генетика микроорганизмов. Биотехнология в микробиологии. Молекулярно-биологические методы диагностики.
- Тема 4.** Учение об инфекции: роль микробов в инфекционном процессе. 24  
Биологический метод диагностики. Значение микроорганизмов в инфекционном процессе. Микробиологические основы антимикробной терапии. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
- Тема 5.** Экология микроорганизмов. Нормальная микрофлора человека и 30  
окружающей среды. Дисбиоз. Учение о биопленках. Коллюквиум
- Тема 6.** Иммуитет, классификация. Иммунная система. Серологические 40  
методы диагностики.

### *Раздел II. Частная микробиология*

- Тема 7.** Клиническая микробиология, цели и задачи. Этиология и патогенез 44  
внутрибольничных инфекций. Возбудители внутрибольничных инфекций. Патогенные и условно-патогенные грамположительные и грамотрицательные кокки.
- Тема 8.** Возбудители эшерихиозов и бактериальной дизентерии. 54  
Возбудители брюшного тифа, сальмонеллезных токсикоинфекций. Возбудители холеры.
- Тема 9.** Возбудители дифтерии, коклюша. Возбудители легионеллезов, 61  
патогенные и условно-патогенные микобактерии. Итоговое занятие
- Литература 73

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №1

### **Тема: ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ МИКРОБИОЛОГИИ. КЛАССИФИКАЦИЯ И МОРФОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ. СТЕРИЛИЗАЦИЯ, ДЕЗИНФЕКЦИЯ.**

**Цель:** формирование знаний о структуре, задачах и методах микробиологии как науки, истории ее становления и положения среди других наук.

#### **Задачи:**

1. Научиться работать с бактериальными культурами.
2. Приготовить фиксированные препараты.

#### **Основные вопросы темы занятия:**

1. Предмет изучения медицинской микробиологии и ее значение для практического здравоохранения.
2. Систематика и номенклатура микроорганизмов.
3. Виды микробиологических лабораторий, правила работы в них. Методы микробиологии.
4. Формы и размеры бактерий.
5. Химический состав и физические свойства бактериальных клеток.
6. Структура бактериальной клетки: ядерный аппарат, цитоплазма, рибосомы. Их строение, функции и методы выявления.
7. Оболочка бактерий: цитоплазматическая мембрана, клеточная стенка, капсула. Строение, функции и методы выявления.
8. Жгутики и реснички. Их строение, функции и методы выявления.
9. Споры. Их роль и особенности строения. Спорообразование. Методы выявления спор.
10. Техника приготовления мазков. Простые и сложные методы окраски. Механизм окрашивания мазков. Тинкториальные свойства микроорганизмов. Окраска по Граму.
11. Световой микроскоп, его основные характеристики. Виды световой микроскопии (темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная). Иммерсионная микроскопия, принцип. Порядок проведения иммерсионной микроскопии. Электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия.
12. Стерилизация и дезинфекция. Методы стерилизации.

Работа в микробиологической лаборатории требует строгого соблюдения специальных правил, т.к. используют чистые культуры микроорганизмов (популяции микроорганизмов одного вида), среди которых могут быть выделены патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Подготовка помещения для проведения микробиологических работ включает влажную уборку и тщательную вентиляцию с последующим облучением ультрафиолетовыми лучами бактерицидных ламп. Поверхность стола, где непосредственно проводится работа с культурами микроорганизмов, следует дезинфицировать путем протирания 3% -ным раствором хлорамина.

Подготовку лаборатории к занятиям проводит лаборант; студенты, выполняя задания, должны соблюдать следующие правила:

1. Каждый студент в микробиологической лаборатории работает на постоянном месте, выполняя задания индивидуально.
2. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов.
3. Студент должен работать только в белых халатах, волосы должны быть подобраны.
4. При работе с культурами микроорганизмов необходимо соблюдать все правила микробиологической техники. На пробирках, колбах, чашках Петри должна быть сделана надпись, содержащая родовые и видовые названия культуры, дату засева, фамилию студента и номер группы.
5. Все предметы, использованные при работе с живыми культурами, должны быть обеззаражены либо обжиганием в пламени горелки (петли, иглы), либо погружены в дезинфицирующий раствор (предметные и покровные стекла, пипетки).
6. Все засеянные пробирки, чашки помещают в термостат или сдают лаборанту. Отобранный материал (пробирки, чашки Петри) также помещают в определенные емкости по указанию лаборанта для дальнейшего обеззараживания.
7. В лаборатории запрещается курение, прием пищи, лишнее хождение.
8. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место, вымыть руки.

#### **Задание на занятие**

1. Приготовить фиксированный препарат бактериальных клеток.
2. Провести окраску по Граму микроорганизмов.
3. Произвести иммерсионную микроскопию объективом 90х, зарисовать.

## Задание на самостоятельную работу

### 1. Дайте определение

Вид – \_\_\_\_\_

Чистая культура – \_\_\_\_\_

Смешанная культура – \_\_\_\_\_

Штамм – \_\_\_\_\_

Клон – \_\_\_\_\_

Биовар – \_\_\_\_\_

Серовар – \_\_\_\_\_

### 2. Заполните таблицу.

#### *ОСНОВНЫЕ ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИМЕЮЩИХ МЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ*

Определение	Пример
<i>Царство Эукариоты</i>	
Простейшие –	
Грибы –	
<i>Царство Прокариоты</i>	
Бактерии –	
Микоплазмы –	
Риккетсии –	
Хламидии –	
Спирохеты –	
<i>Царство Вирусы –</i>	

### 3. Дайте определение. Дополните предложения.

Разрешающая способность объектива – \_\_\_\_\_

Увеличительная способность микроскопа – \_\_\_\_\_

1. Иммерсионный микроскоп.

Иммерсионный микроскоп отличается от обычного светового микроскопа – \_\_\_\_\_

Иммерсионное масло необходимо для \_\_\_\_\_

2. Темнопольный микроскоп.

Темнопольный микроскоп отличается от обычного светового микроскопа \_\_\_\_\_

3. Фазово-контрастный микроскоп.

Принцип работы \_\_\_\_\_

Фазово-контрастный микроскоп отличается от обычного светового микроскопа \_\_\_\_\_

4. Люминесцентный микроскоп.

Принцип работы \_\_\_\_\_

Люминесцентный микроскоп отличается от обычного светового микроскопа \_\_\_\_\_

5. Электронный микроскоп.

Принцип работы \_\_\_\_\_

Электронный микроскоп отличается от обычного светового микроскопа \_\_\_\_\_

6. Атомно-силовая микроскопия.

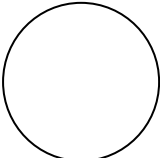
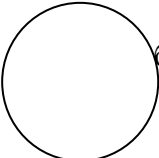
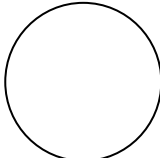
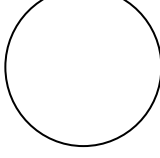
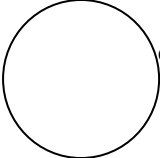
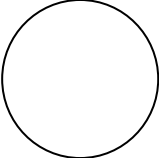
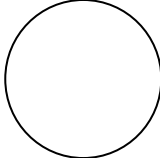
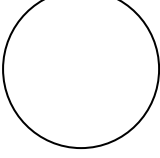
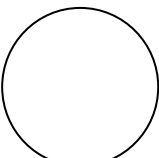
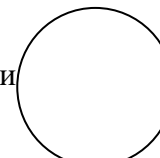
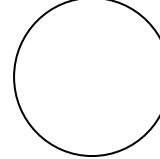
Принцип работы \_\_\_\_\_

Атомно-силовая микроскопия отличается от обычного светового микроскопа \_\_\_\_\_

**Вывод** (область применения разных типов микроскопов)

#### 4. Зарисуйте рисунки.

### МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ОСНОВНЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППЫ БАКТЕРИЙ

Кокки	Палочки	Извитые	Нитчатые
 диплококки	 бактерии	 вибрионы	
 стрептококки	 бациллы	 спирохеты	актиномицеты
 сарцины	 клостридии	 спираиллы	
 стафилококки			

Морфология бактерий – размер, форма и взаимное расположение бактериальных клеток.

### Приготовление фиксированного препарата

Этапы приготовления фиксированного препарата:

- Подготовка стекла
- Приготовление мазка
- Высушивание
- Фиксация

*Простые методы окраски* – методы, основанные на применении одного красителя. Примеры: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Сложные методы окраски* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Тинкториальные свойства* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Общая схема сложных (дифференцированных) методов окраски:

- Основной краситель;
- Дифференцирующее вещество;
- Дополнительный краситель.

### Окраска по Граму

Этап	Вещество	Время обработки
Основной краситель	Генцианвиолет	1 мин
Фиксатор	Р-р Люголь	1 мин
Дифференцирующее вещество	Спирт этиловый 96 <sup>0</sup>	5-10 сек
Промывка	Вода	5-10 сек
Дополнительный краситель	Водный фуксин	1 мин
Промывка	Вода	5-10 сек



*Принцип метода:*

Генцианвиолет связывается с пептидогликаном клеточной стенки. Толстый слой пептидогликана грамположительных бактерий связывает много красителя, тонкий слой – грамотрицательных – мало. Раствор Люголя фиксирует краситель за счет образования комплекса краситель-пептидогликан-йод. При обработке мазка спиртом грамотрицательные микроорганизмы быстро теряют краситель и обесцвечиваются, а грамположительные – остаются окрашенными в синий цвет. Дополнительный краситель окрашивает грамотрицательные микроорганизмы в красный цвет.

Бактерии	
грамположительные	граммотрицательные
	

**Вывод.**

**ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №2**

**Тема: МЕТАБОЛИЗМ МИКРООРГАНИЗМОВ. МЕХАНИЗМ ПИТАНИЯ И ДЫХАНИЯ. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ. КУЛЬТУРАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Цель:** систематизация знаний о метаболизме микроорганизмов.

**Задачи:**

1. Изучить механизмы питания микроорганизмов.
2. Изучить различные виды питательных сред.
3. Рассмотреть технику посева микроорганизмов на питательные среды.

**Основные вопросы темы занятия:**

1. Метаболизм микроорганизмов. Понятие анаболизма и катаболизма.
2. Механизм питания бактерий.
3. Аутотрофы и гетеротрофы, ауксотрофы и прототрофы.
4. Питательные среды. Классификация питательных сред.

5. Требования к искусственным питательным средам.
6. Методика посева на искусственные питательные среды.
7. Фазы роста на искусственной питательной среде.
8. Понятие колонии, чистой культуры, клона.
9. Механизм дыхания бактерий. Аэробы и анаэробы.
10. Выделение чистой культуры аэробов.
11. Методы культивирования анаэробных бактерий: питательные среды, аппаратура.
12. Выделение чистой культуры анаэробов.
13. Идентификация выделенной чистой культуры бактерий.
14. Основные группы ферментов бактерий.
15. Определение сахаролитических свойств бактерий.
16. Определение протеолитических ферментов.
17. Выделение пептолитических ферментов.
18. Ферменты агрессии: коагулаза, гиалуронидаза, нейроминидаза, ДНК – аза, гемолизин.

В любой биологической системе рост может быть определен как согласованное увеличение количества всех химических компонентов, как увеличение количества живого вещества. Рост микроорганизмов возможен, если в окружающей среде присутствуют все необходимые питательные вещества источники углерода, азота, водорода, кислорода и микроэлементы.

Культивирование микроорганизмов называют их выращивание на искусственных средах.

Натуральные среды состоят из продуктов животного и растительного происхождения – мяса, молока, картофеля, моркови и т.д. Примеры:

- мясо - пептонный бульон, состоящий из экстракта мяса (500 г мяса на 1л воды), 0,5% NaCl и 1% пептона;
- картофельная среда, которая готовится путем отвара картофеля (200 г картофеля на 1л воды).

Полусинтетические среды в своем составе наряду с соединениями известной химической природы содержат вещества неопределенного состава.

К полусинтетическим средам относятся мясо - пептонный бульон с глюкозой и фосфорнокислым калием, картофельную среду с глюкозой и пептоном.

Синтетические среды – среды, в состав которых входят химические соединения в определенных концентрациях. Примеры: среда Чапека для культивирования грибов (глюкоза, азотнокислый натрий, фосфорнокислый калий, сернокислый магний, сернокислое железо, вода).

Элективные среды обеспечивают преимущественное развитие одного вида или группы микроорганизмов и менее пригодны (или непригодны) для развития других.

Дифференциально-диагностические (индикаторные) среды позволяют достаточно быстро отличить одни виды микроорганизмов от других (среда Эндо для идентификации *E. coli*).

По физическому состоянию различают жидкие, плотные и сыпучие среды. Наиболее часто для уплотнения сред используется агар-агар. Это сложный полисахарид, получаемый из морских водорослей. Большинство микроорганизмов не используют его в качестве питательного субстрата.

Жидкие среды применяют для выяснения физиолого-биохимических особенностей микроорганизмов, для накопления биомассы или продуктов метаболизма, а также поддержания и хранения многих микроорганизмов, плохо развивающихся на плотных средах.

Сыпучие среды применяют в промышленной микробиологии. К ним относятся, например, разваренное пшено, отруби, кварцевый песок, пропитанные питательным раствором.

Плотные среды используют для выделения чистых культур (полуизолированных колоний), диагностических целей (установление морфологии колоний, особенностей роста на скошенном агаре и др.), для хранения культур, количественного учета микроорганизмов, определения их антагонистических свойств и в ряде других случаев.

При специальных исследованиях используется кремнекислый гель (силикагель) – вещество неорганической природы и его используют как твердую основу для синтетических сред.

#### *Техника посева и пересева культур микроорганизмов*

Посевом в микробиологии называют внесение клеток микроорганизмов (посевого материала – инокулята) в стерильные среды.

Пересев – это перенос выращенной культуры микроорганизмов на питательной среде на другую свежую питательную среду.

Посев (и пересев) микроорганизмов проводят при соблюдении определенных правил стерильности, которые необходимо выполнять, чтобы предохранять исследуемую культуру от загрязнения посторонними микробами и не загрязнять окружающую среду исследуемыми микроорганизмами.

1. *Пересев микроорганизмов, выращенных на твердой среде в пробирках, в другие пробирки со средой.*

- на пробирке со свежей питательной средой разборчиво подписывают название микроорганизма и дату посева. Надписи делают карандашом по стеклу.

- зажигают горелку; посевы проводят над пламенем горелки, чтобы теплый воздух препятствовал осаждению микроорганизмов из окружающего воздуха и отчасти их уничтожал.

- берут в правую руку бактериологическую петлю, с помощью которой осуществляют посев.

- стерилизуют бактериологическую петлю в пламени горелки, прокаливая проволоку докрасна. При прокаливании петлю держат почти вертикально, чтобы вся проволока была раскалена.

- берут в левую руку две пробирки – одну со стерильной средой (дальше от себя), другую – с культурой микроорганизмов (ближе к себе).

- не выпуская бактериологической петли в правой руке, мизинцем и безымянным пальцем руки прижимают наружные концы ватных пробок к ладони и вынимают пробки из пробирок. Класть пробки на стол нельзя.

- слегка обжигают в пламени горелки края открытых пробирок.

- вводят в пробирку с культурой микроорганизмов петлю. Чтобы не повредить клетки микроорганизмов, петлю вначале охлаждают, прикасаясь к внутренней поверхности пробирки или к питательной среде, свободной от клеток микроорганизмов, и только после этого отбирают небольшое количество микробной массы.

- вынимают петлю и вводят ее в пробирку со стерильной питательной средой, избегая прикосновения со стенками пробирки.

- проводят петлей от дна вверх зигзагообразную или прямую черту-штрих, слегка касаясь поверхности агара.

- обжигают ватные пробки и края пробирок одновременно в пламени и закрывают обе пробирки.

- обжигают петлю в пламени.

При использовании метода истощающего штриха исследуемый материал наносят петлей в верхнюю часть твердой среды в чашке Петри и аккуратно, зигзагообразно петлей по поверхности чашки (рис.1).

После посева чашки необходимо перевернуть вверх дном и поставить в термостат при температуре, благоприятной для данного микроорганизма. Инкубируют посеы обычно в термостате в течение 2-3 дней. В результате на поверхности среды вырастают колонии микроорганизмов. Выросшие колонии сначала рассматривают невооруженным глазом, а затем при помощи микроскопа.

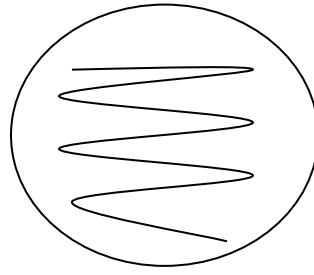


Рис. 1. Метод посева зигзагообразной петлей

Чистые культуры микроорганизмов, как правило, выделяются на поверхности или внутри твердой питательной среды.

Чистой культурой называют культуру, состоящую из микроорганизмов одного вида. Чистая культура микроорганизмов, которая является потомством одной единственной клетки, называется клоном.

Существуют несколько методов получения чистых культур. Наиболее распространен в практике метод выделения чистых культур с помощью твердых сред (метод Коха).

Метод заключается в получении чистой культуры из отдельной колонии, выросшей на твердой питательной среде в результате размножения одной клетки. Метод основан на том, что при нанесении микроорганизмов из посевного материала на твердую среду отдельные клетки будут закрепляться в определенной точке среды и, размножаясь, давать потомство (клон), представляющее чистую культуру микроорганизма.

Для получения изолированных колоний на твердой среде исследуемый материал высевают на поверхность твердой питательной среды, наносят петлей или пипеткой каплю исследуемого материала. Рассев проводят либо методом истощающего мазка, либо методом истощающего штриха. В первом случае шпателем равномерно распределяют нанесенную каплю по поверхности среды. Тем же шпателем делают посев на поверхности второй пластинки и затем третьей, т.е. перенося последовательно на твердую среду клетки микроорганизмов, которые остались на шпателе. Таким образом, количество микроорганизмов, вносимых последовательно на пластинки, будет уменьшаться: на вторую – меньше, чем на первую; на третью – еще меньше, чем на вторую и т.д.

При описании колоний микроорганизмов отмечают следующие морфологические и культуральные признаки:

- размер колоний – их диаметр в мм (если колонии не превышают 1 мм, их называют точечными);

- форма колоний – округлая, неправильная, мицелиевидная, амёбовидная, складчатая, сложная и т.д.;
- цвет колонии – белый, желтый, розовый и способность выделять пигмент в среду;
- поверхность колоний – гладкая, складчатая, с радиальной или концентрической исчерченностью, шероховатая, бугристая и др.;
- оптические свойства – прозрачная, полупрозрачная, непрозрачная, блестящая, матовая, флуоресцирующая и т.д.;
- край колоний – ровный, извилистый, зубчатый, лопастной, волнистый, неправильный, реснитчатый, ветвистый;
- консистенция колоний – маслянистая, тестообразная, вязкая, пленчатая.

Для описания колоний из имеющихся чашек Петри берут ту, на которой колонии достаточно изолированы друг от друга.

Из отобранных колоний готовят препараты, микроскопируют для проверки морфологической однородности клеток. При приготовлении препаратов необходимо соблюдать все правила стерильности (не открывать широко крышку чашки, хорошо простерилизовать петлю).

Далее пересевают культуру из колоний в пробирку со скошенной плотной питательной средой (косяк).

Посев проводят следующим образом:

1. Зажимают пробирку средним пальцем левой руки (скошенная поверхность агара должна быть обращена вверх).
2. Обжигают петлю.
3. Приоткрывают крышку чашки Петри, берут петлей материал из колонии и закрывают крышку.
4. Быстро делают посев штрихом по поверхности косога агара.
5. Делают на пробирке надпись, число, номер колонии и др., ставят посев в термостат.

Для выделения чистых культур многих бактерий используют МПА.

### **Задание на занятие**

1. Выделить чистые культуры бактерий по методу Коха на среде МПА из предоставленной суспензии культур микроорганизмов.
2. Изучить морфологические и культуральные признаки выросших колоний.
3. Зарисовать выбранную изолированную колонию.

## Задание на самостоятельную работу

Пути поступления питательных веществ в бактериальную клетку –

Анаболизм – \_\_\_\_\_

Катаболизм – \_\_\_\_\_

Аутоотрофы – \_\_\_\_\_

Гетеротрофы – \_\_\_\_\_

Прототрофы – \_\_\_\_\_

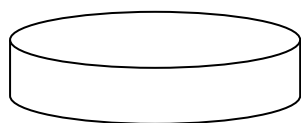
Ауксотрофы – \_\_\_\_\_

Требования, предъявляемые к питательным средам:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_
6. \_\_\_\_\_

### Питательные среды

#### Китта - Тароци



Тип среды \_\_\_\_\_

Состав среды:

Питательная основа \_\_\_\_\_

Элективный фактор \_\_\_\_\_

Вывод: (опишите рост анаэробных бактерий) \_\_\_\_\_

#### Среда Эндо



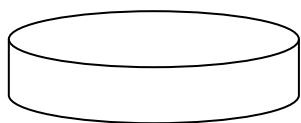
Тип среды \_\_\_\_\_

Состав среды:

Питательная основа \_\_\_\_\_

Элективный фактор \_\_\_\_\_

Вывод: (опишите рост кишечных палочек) \_\_\_\_\_



**Желточно - солевой агар**

Тип среды \_\_\_\_\_

Состав среды:

Питательная основа \_\_\_\_\_

Элективный фактор \_\_\_\_\_

Дифференцирующий фактор \_\_\_\_\_

Индикатор \_\_\_\_\_

Вывод: (опишите рост стафилококков) \_\_\_\_\_

**Культуральные свойства микроорганизмов**

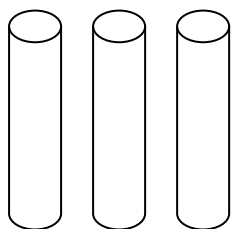
Культуральные свойства – \_\_\_\_\_

Характер роста микроорганизмов на плотных питательных средах



1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

Характер роста микроорганизмов на жидких питательных средах



1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

**Дыхание микроорганизмов**

Аэробы – \_\_\_\_\_

Факультативные анаэробы – \_\_\_\_\_

Облигатные анаэробы – \_\_\_\_\_

Микроаэрофилы – \_\_\_\_\_



Капнофилы – \_\_\_\_\_

### Дыхательные цепи

Аэробы	Факультативные анаэробы	Облигатные анаэробы

### Ферменты бактерий

Экзоферменты – \_\_\_\_\_

Эндоферменты – \_\_\_\_\_

Пермеазы – \_\_\_\_\_

Конститутивные ферменты – \_\_\_\_\_

Адаптивные ферменты – \_\_\_\_\_

### Способы изучения биохимических свойств бактерий

1. Среды «пестрого ряда» (среды Гисса)

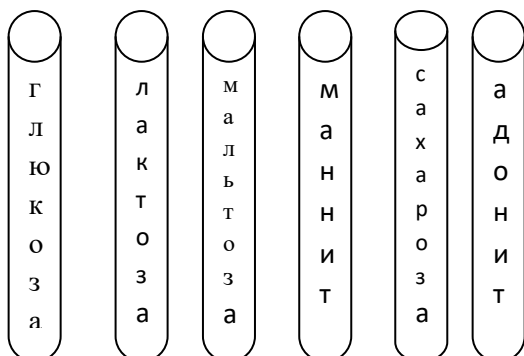
Состав – \_\_\_\_\_

Принцип действия – \_\_\_\_\_

2. Система индикаторных бумаг (СИБы).

Принцип действия: диски из фильтровальной бумаги, пропитанные питательными средами (питательная основа+субстрат+индикатор) и высушенные, хранятся во флаконах. В лаборатории диски раскладываются в стерильные пробки и заливаются густой суспензией исследуемой культуры в физрастворе. Учет проводят после 18-24 часовой инкубации в термостате по изменению цвета индикатора.

*Escherichia coli*



Произвести окрашивание пробирок в соответствии с изменением цвета индикатора. **Вывод.**

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №3

### **Тема: ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ. ОТКРЫТИЕ ВИРУСОВ, КЛАССИФИКАЦИЯ. БАКТЕРИОФАГИ. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАГОВ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ. ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ. БИОТЕХНОЛОГИЯ В МИКРОБИОЛОГИИ. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ**

**Цель:** формирование знаний об особенностях строения вирусов, бактериофагов, механизмах наследственности и изменчивости.

#### **Задачи:**

1. Рассмотреть структуру, методы выделения, идентификации вирусов.
2. Познакомиться с принципами применения препаратов бактериофагов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний.
3. Познакомиться с особенностями наследственности, видами изменчивости микроорганизмов.
4. Рассмотреть современные методы генетических исследований микроорганизмов и использование их в медицинской практике.

#### **Основные вопросы темы занятия:**

1. Классификация вирусов. Понятие вируса и вириона.
2. Морфология вирусов. Функции ДНК и РНК (- нить, + нить).
3. Химический состав нуклеопротеида. Ферменты.
4. Методы культивирования вирусов.
5. Взаимодействие вируса с клеткой. Механизм транскрипции и репликации вирусного генома.
6. Механизм интеграции ДНК и РНК вируса в геном клетки.
7. Пути передачи вирусных инфекций.
8. Морфология фагов.
9. Механизм взаимодействия фагов с бактериальной клеткой.
10. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения.
11. Титр фага. Методы определения.
12. Принцип получения культуры фагов. Применение в медицине.
13. Организация генетического аппарата у бактерий. Генотип и фенотип.
14. Внехромосомные факторы: плазмиды у бактерий, их роль: транспозоны: Is – последовательности.
15. Формы изменчивости у микроорганизмов.
16. Мутации, виды мутаций у бактерий.

17. Генетические рекомбинации у бактерий (трансформация, трансдукция, конъюгация).
18. Понятие о модификациях.
19. Практическое использование генной инженерии.
20. Теоретическое и практическое значение учения о генетике.

**Вирусы (Царство Vira)** – группа ультрамикроскопических облигатных внутриклеточных паразитов, способных размножаться только в клетках живых организмов.

Все вирусы существуют в двух качественно различных формах: вирион (внеклеточная форма) и вирус (репродуцирующая форма, вегетативная). Любая вирусная частица содержит только один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК). Вироиды содержат нуклеиновую кислоту, вызывают заболевания растений. Прионы не содержат нуклеиновой кислоты, только белок, активирующий ген.

Вирусы не имеют клеточного строения, не способны к росту и бинарному делению; не имеют собственных систем метаболизма; содержат нуклеиновые кислоты только одного типа – ДНК или РНК; используют рибосомы клетки-хозяина для образования собственных белков; не размножаются на искусственных питательных средах и могут существовать только в организме восприимчивого к ним хозяина.

Фаги – облигатные паразиты микроорганизмов. Бактериофаги – вирусы, пожирающие бактерии.

В настоящее время микроорганизмы являются основными объектами при изучении законов генетики. Микробы являются гаплоидами, бактерии имеют одну хромосому; характеризуются высокой скоростью изменения; легко культивируются. При помощи генной инженерии можно заставить продуцировать белки, ферменты, которые необходимы человеку, можно заставить продуцировать токсины, которые считаются вредными.

Генетика позволяет создавать продукты высокого качества.

*Генный аппарат бактерий* – состоит из одной кольцевой молекулы ДНК, в которой гены располагаются линейно. *Ген* – это участок ДНК, ответственный за синтез одного белка.

В бактериальной хромосоме все гены расположены в линейной последовательности. Гены определенных признаков лежат в соответствующих местах хромосомы, называемых локусами. Бактерии обычно гаплоидны, т.е. они имеют только один набор генов.

Проявление наследуемых морфологических признаков и физиологических процессов у индивидуумов называется фенотипом.

Сходные по генотипу микроорганизмы могут существенно различаться по фенотипу, т.е. способу проявления наследственных признаков.

У бактерий часто помимо хромосомного генома имеется дополнительный плазмидный геном, наделяющий их важными биологическими свойствами (устойчивостью к антибиотикам, химиопрепаратам, способностью к токсинообразованию и т.д.): плазмиды, транспозоны, IS-последовательности (*Insertion seguen* – подвижная вставка).

Получение наследственно измененных форм микроорганизмов расширило возможности их использования в сельскохозяйственном и промышленном производстве, а также и в медицине. Основной метод получения новых форм микроорганизмов – индуцирование мутаций воздействием различными мутагенами на дикие, существующие в природе культуры. Таким методом удастся создавать мутантов, которые выделяют в десятки и сотни раз большее количество ценных продуктов (антибиотиков, ферментов, витаминов, аминокислот и т.д.) по сравнению с дикими формами микроорганизмов.

### **Задание на самостоятельную работу**

Бактериофаги – \_\_\_\_\_

#### **Результаты взаимодействия бактериофагов с чувствительной клеткой**

##### **1. Вирулентный бактериофаг**

На жидких питательных средах – лизис культуры.

На плотных питательных средах – негативные колонии фагов (бляшки).

##### **2. Умеренные бактериофаги**

Лизогения – \_\_\_\_\_

Лизогенная конверсия – \_\_\_\_\_

Примеры: \_\_\_\_\_

#### **Выделение, идентификация и титрование бактериофагов**

##### **1. Выделение.**

Фильтрация исследуемого материала через бактериальные фильтры или обработка хлороформом для уничтожения бактериальной и грибковой микрофлоры.

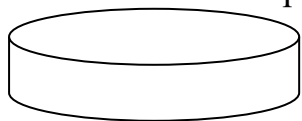
##### **2. Индикация и идентификация бактериофага.**

Титр бактериофага – \_\_\_\_\_

Качественные пробы на бактериофаг:

**а) по Фишеру**

Принцип метода: \_\_\_\_\_



Сделать рисунок-схему.

**б) титрование в жидкой среде по Аппельману**

Принцип метода: в ряд пробирок с МПБ вносят индикаторную культуру и по 1 мл соответствующего разведения фагосодержащего материала. После инкубации учитывают результат: «+» - лизис индикаторной культуры (просветление среды); «-» - рост индикаторной культуры (помутнение среды).

Сделать рисунок-схему.

**б) метод агаровых слоев по Грациа**

Принцип метода: В пробирке с растопленным полужидким агаром вносят индикаторную культуру и 1 мл соответствующего разведения фагосодержащего материала, тщательно перемешивают и выливают в чашки с МПА. После инкубации подсчитывают число негативных колоний на чашке и делают пересчет на 1 мл неразведенного материала.

Сделать рисунок-схему.

### Практическое использование бактериофагов

**1. Фаготерапия.**

Фаготерапия – \_\_\_\_\_

Примеры: \_\_\_\_\_

**2. Фагопрофилактика.**

Фагопрофилактика – \_\_\_\_\_

Примеры: \_\_\_\_\_

**3. Фаготипирование.**

Фаготипирование – \_\_\_\_\_

Фаготип – \_\_\_\_\_

### Биопрепараты

Все биопрепараты бактериофагов содержат фильтрат фаголизата соответствующей культуры бактерий.

**1. Лечебно-профилактические бактериофаги:**

а) таблетированные, покрытые кислотоустойчивой оболочкой (дизентерийный);

б) жидкие для местного или перорального применения (пиобактериофаг, стафилофаг)

2. Диагностические бактериофаги:

а) видовые (индикаторные) – применяются для \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ (чумной, холерный, дизентерийный);

б) типовые – применяются для \_\_\_\_\_  
(стафилококковые, брюшнотифозные).

### Задание на самостоятельную работу

#### Изменчивость микроорганизмов

Генотип – \_\_\_\_\_

Мутационная изменчивость – \_\_\_\_\_

Модификационная изменчивость – \_\_\_\_\_

#### R и S формы энтеробактерий

Свойства	S -формы	R - формы
Морфологические - капсула - жгутики		
Вирулентность		

#### Рекомбинационная изменчивость

Трансформация – \_\_\_\_\_

Трансдукция – \_\_\_\_\_

Конъюгация – \_\_\_\_\_

#### Плазмиды бактерий

Плазмиды – \_\_\_\_\_

Название плазмид	Функции плазмид

### Применение методов генетики микроорганизмов в медицине

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

### Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод, который позволяет найти в исследуемом клиническом материале небольшой участок генетической информации (ДНК/РНК) инфекционного возбудителя, многократно его размножить и выявить с помощью различных современных технологий (гибридизационно - флюоресцентная детекция в режиме «реального времени» и «по конечной точке»).

В настоящее время ПЦР является одним из высокочувствительных методов диагностики инфекционных заболеваний, который позволяет выявлять единичные вирусные частицы или бактериальные клетки.

Появление ПЦР значительно расширило возможности клинической лабораторной диагностики.

Принцип метода: исследуемый материал подвергается специальной обработке, при которой происходит лизис клеток возбудителя с выходом ДНК. Часть материала переносится в пробирку, содержащую смесь моонуклеотидов, ДНК-полимеразу и праймер – уникальную последовательность нуклеотидов, присущую искомому возбудителю. Циклическое изменение температуры (30 циклов) позволяет осуществить репликацию определенного гена возбудителя *in vitro*. Этот процесс называется амплификацией, в результате которого количество специфической ДНК увеличивается в миллионы раз. Такие количества ДНК могут быть выявлены с помощью электрофореза в агарозном геле.

Преимущества метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний –

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_

**Вывод.**

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №4

### Тема: УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ: РОЛЬ МИКРОБОВ В ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ. ЗНАЧЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

**Цель:** формирование знаний о механизмах инфекционного процесса, принципах антимикробной терапии.

#### **Задачи:**

1. Изучить процессы взаимодействия и роль макро- и микроорганизмов в возникновении и развитии инфекционного процесса.
2. Рассмотреть факторы вирулентности бактерий.
3. Изучить механизм действия эндо - и экзо - токсинов микроорганизмов.
4. Определить чувствительность бактерий к антибиотикам методом индикаторных дисков.

#### **Основные вопросы темы занятия:**

1. Понятие инфекционного процесса и инфекционной болезни. Формы инфекционного процесса.
2. Экзогенные и эндогенные инфекции. Понятие “Входных ворот и инфицирующей дозы”. Пути передачи инфекции.
3. Очаговый и генерализованный инфекционный процесс. Пути распространения инфекций в организме. Понятие: бактериемия, вирусемия, токсемия, сепсис, септикопиемия.
4. Моно - микстиинфекция, первичная и вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив.
5. Классификация инфекционного процесса: по источнику, течению, тяжести, по распространенности.
6. Периоды инфекционного заболевания.
7. Патогенность и вирулентность микроорганизмов, единицы измерения вирулентности.
8. Факторы вирулентности: адгезия, колонизация, пенетрация, инвазия. Их характеристики. Способность подавлять защитные силы макроорганизма.
9. Токсичность. Экзотоксины. Классификация по механизму действия.
10. Эндотоксины. Химическая природа, действие на макроорганизм.



11. Роль макроорганизма в возникновении инфекционного процесса.
12. Понятие об антибиотиках, их открытие. Классификация антибиотиков: по происхождению, способу получения, действию на микроорганизм, антимикробному спектру.
13. Механизм действия антибиотиков на клетки микроорганизмов.
14. Принцип получения антибиотиков. Единицы активности антибиотиков.
15. Механизм устойчивости бактерий к антибиотикам и способы борьбы с ними.
16. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
17. Побочные действия антибиотиков.

Инфекционный процесс – совокупность физиологических и патологических процессов, возникающих и развивающихся в организме при внедрении в него патогенных микробов, которые вызывают нарушение постоянства его внутренней среды и физиологических функций. Инфекционное заболевание является одной из форм инфекционного процесса. Различные формы проявления инфекционного процесса обуславливаются биологическими и социальными факторами окружающей среды.

Инфекционный процесс может быть искусственно воспроизведен путем заражения лабораторных животных: кроликов, морских свинок, белых мышей, белых крыс и др. Экспериментальное заражение животных производится для: 1) изучения патогенности и вирулентности микроорганизмов; 2) выделения чистой культуры возбудителя из различных материалов; 3) воспроизведения экспериментальной инфекции, испытания лечебного действия химиотерапевтических препаратов и других целей. Перед постановкой опыта отбирают группу животных определенного вида, возраста, веса и, если нужно по условиям опыта, одного пола. Животные должны быть совершенно здоровы. Отобранных животных рассаживают по клеткам и в течение нескольких дней взвешивают, измеряют температуру.

В зависимости от цели исследования пользуются различными способами заражения: внутрикожным, подкожным, внутримышечным, внутрибрюшинным, внутривенным, пероральным, интраназальным, интрацеребральным.

В возникновении и развитии инфекционного процесса исключительно важное и решающее значение имеют состояние организма человека, его индивидуальные особенности, а также условия окружающей среды, труда и быта.

Инфекционный процесс может протекать в разнообразной форме в зависимости от происхождения, локализации возбудителя и других факторов.

Антибиотики – это специфические продукты жизнедеятельности микроорганизмов и их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов, избирательно задерживая или полностью подавляя их рост.

Антибиотические вещества разнообразны по химическому составу и механизму действия. Характерной особенностью антибиотиков является избирательность их действия: каждый антибиотик проявляет биологическое воздействие (эффективен) лишь по отношению к определенным организмам или группам организмов, не оказывая воздействия на другие.

Образование антибиотиков – это наследственно закрепленная особенность метаболизма организмов, это специфическая особенность вида или даже штамма микроорганизмов, возникшая в результате эволюционного развития как одна из приспособительных особенностей, обуславливающая проявление широко распространенных в мире микроорганизмов антагонистических отношений.

Процесс образования антибиотиков тесно связан с развитием организмов-продуцентов и осуществляется, как правило, в фазу замедления роста. Для определения спектра антимикробного действия антибиотика или чувствительности микроорганизмов к антибиотикам используются методы, основанные на способности антибиотика диффундировать в толщу агара.

Для определения чувствительности микроорганизма к антибиотикам на чашки Петри с подсушенной средой МПА засевают исследуемую культуру сплошным газоном. Посев производят стерильным ватным тампоном, смоченным суспензией исследуемой культуры. Стерильным пинцетом на агар плотно накладывают индикаторные бумажные диски (4-5 штук), пропитанные раствором определенного антибиотика на равном расстоянии друг от друга и на расстоянии около 2,5 см от центра чашки.

Диски номеруют на обратной стороне дна чашки. Засеянные чашки с нанесенными дисками термостатируют (вверх дном) при 37<sup>0</sup> С в течение 16-18 ч.

Антибиотики, диффундирующие в толщу агара, предотвращают или задерживают рост чувствительных к ним культур микроорганизмов, что проявляется в образовании вокруг соответствующих дисков зоны угнетения роста, четко выделяющейся на фоне сплошного газона роста тестируемой культуры.

Для определения спектра антимикробного действия продуцента антибиотиков на наружной поверхности дна чашки Петри с агаризованной

пептоно - глюкозной средой по диаметру чашки на расстоянии 1 см друг от друга проводят две параллельные линии. Петлей проводят посев спор культуры актиномицета вдоль отмеченных полос. При посеве чашки держат агаровой пластинкой вниз (чтобы споры не разлетались). Через 6-7 дней перпендикулярно штриху выросшего актиномицета проводят посев штрихов тест - организмов. Посев делают петлей из густых суспензий тест - организмов в стерильной водопроводной воде. Чашки инкубируют при 37° С в течение 1-2 суток.

Таблица

Величина зоны угнетения определяет степень чувствительности микроорганизмов к данному антибиотику

Диаметр зоны задержки роста, мм	Степень чувствительности к антибиотику
Более 25	высокочувствительные
15-25	чувствительные
10-14	малочувствительные
Менее 10 и полное отсутствие	устойчивые

Воздействие антибиотика, продуцируемого актиномицетом, на тестируемые микроорганизмы определяют по величине между краем штриха актиномицета и началом роста тест - организма.

#### Задание на занятие:

1. Определить чувствительность бактерий к антибиотикам методом чувствительных дисков.

#### Задание на самостоятельную работу

Инфекция - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Эндогенная инфекция (аутоинфекция) - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Экзогенная инфекция - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Патогенность - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Вирулентность - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Персистенция - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Патогенные микроорганизмы - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Условно-патогенные микроорганизмы - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Единицы измерения вирулентности - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Входные ворота инфекции - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Инвазивность - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Токсичность - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Токсигенность - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Эндотоксин - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Практическое применение эндотоксинов - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Экзотоксин - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Приведите примеры токсигенных микроорганизмов - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Анатоксин - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Практическое применение экзотоксинов:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

Биологический метод диагностики - \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **Этапы биологического метода диагностики**

1. Заражение животного
2. Наблюдение за развитием заболевания
3. Вскрытие погибшего животного

4. Выявление возбудителя в тканях и органах погибшего животного с помощью бактериоскопического метода и выделение - с помощью бактериологического метода.

**Достоинства биологического метода**

---



---

**Недостатки биологического метода**

---



---

**Антибиотики**

Химиопрепараты – \_\_\_\_\_

Антибиотики – \_\_\_\_\_

---

**Принципы классификации антибиотиков**

Классификация	Примеры
По происхождению	
По способу получения	
По группам чувствительных микроорганизмов	
По спектру действия	
По механизму действия	

## Применение антибиотиков в медицине

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

### Осложнения и побочные эффекты антибиотикотерапии

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

**Вывод.**

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №5

### Тема: ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ. НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ЧЕЛОВЕКА И ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ. ДИСБИОЗ. УЧЕНИЕ О БИОПЛЕНКАХ

**Цель:** систематизация знаний об экологии микроорганизмов.

**Задачи:**

1. Научиться определять микробное число воздуха, воды.
2. Научиться проводить бактериологическое исследование зева.
3. Освоить методы определения коли - титра и коли - индекса воды.
4. Изучить состав микрофлоры ротовой полости.
5. Оценить состояние нормальной микрофлоры по результатам лабораторных исследований.

### Основные вопросы темы занятия:

1. Экология микроорганизмов. Формы межвидовых взаимоотношений.
2. Санитарная микробиология, ее значение и методы.
3. Микрофлора воды, санитарно – микробиологические показатели: коли – титр, коли – индекс, микробное число, методы их определения.
4. Микробиоценозы почвы. Оценка санитарно – микробиологического состояния почвы: показатели, методы их определения.

5. Микрофлора воздуха, методы определения санитарно – микробиологического состояния.
6. Оценка санитарно – микробного состояния пищевых продуктов и объектов окружающей среды.
7. Нормальная микрофлора организма человека и ее значение. Гнотобиология.
8. Факторы, нарушающие нормальную микрофлору организма. Дисбиоз, пути его устранения.
9. Понятие биопленки. Особенности взаимодействия микроорганизмов в структуре биопленки.

Водные экосистемы являются средой обитания микроорганизмов. Первичными продуцентами служат одноклеточные водоросли. Микрофлора воды чаще всего отражает микробный пейзаж почвы около водоема, постоянно меняется и обновляется, что связано с попаданием различных бактерий с ливневыми дождями, сточными, талыми водами, с пылью. Микрофлора в пресных и соленых водоемах различна.

Вода артезианских скважин почти не содержит микроорганизмов, что объясняется фильтрующей способностью почвы.

С ливневыми, талыми и сточными водами в реки и озера попадают микроорганизмы – представители нормальной флоры кишечника человека и животных, например, кишечная палочка, энтерококки, различные клостридии. Вместе с ними могут попасть и патогенные микроорганизмы (брюшнотифозные, дизентерийные бактерии, холерные вибрионы, вирусы гепатита) которые сохраняются от нескольких дней до недель. Именно поэтому водный путь передачи является одним из возможных факторов распространения кишечных инфекций.

### *Отбор проб воды*

В зависимости от задачи исследования определяют место и время отбора пробы.

Для исследования воды открытых водоемов, а также колодцев отбирают пробы воды на глубине 10-15 см от поверхности в стерильные флаконы.

Для отбора проб водопроводной воды используют стерильные склянки вместимостью 500 мл с ватно-марлевыми пробками. Бактериологическое исследование отобранных проб должно производиться не позднее 2 ч с момента отбора или не позднее 6 ч при хранении пробы при 1-5<sup>0</sup> С.

## *Методы определения микробного числа*

В 1 мл исследуемой воды определяют содержание мезофильных аэробов и факультативных анаэробов, способных при 37<sup>0</sup> С в течение суток на МПА образовывать колонии, видимые невооруженным глазом или при увеличении в 2-5 раз. Из каждой пробы делают посев не менее двух различных объемов, выбранных с таким расчетом, чтобы число выросших колоний на чашке колебалось от 30 до 300.

При исследовании водопроводной воды в каждую из двух чашек вносят по 1-0,1 мл чистых вод и по 0,01 и 0,001 мл более загрязненных. При определении микробного числа сильно загрязненных вод и сточных жидкостей исследуют по 0,0001 и 0,00001 мл.

Для посева 0,1 мл и меньших объемов исследуемую воду разводят стерильной дистиллированной водой. Готовят последовательно 10-кратные разведения.

По 1 мл каждого разведения вносят в 2 чашки Петри и заливают тонким слоем предварительно растопленного и остуженного до 45<sup>0</sup> С питательного агара (10-12 мл агара). После интенсивного перемешивания среде дают застыть на строго горизонтальной поверхности. Посевы выращивают в течение суток при температуре 37<sup>0</sup>С. С лупой при увеличении в 2-5 раз подсчитывают все выросшие колонии. Учитывают результаты только на тех чашках, где число колоний колеблется в пределах от 30 до 300, и производят перерасчет содержания бактерий в 1 мл исследуемой воды.

Общепринятым показателем санитарно-микробиологического исследования воды является показатель коли - индекс, т.е. количество бактерий группы кишечных палочек в 1 мл воды или коли - титр – наименьшее количество или наибольшее разведение воды, в котором еще обнаруживается кишечная палочка.

Воздух не является средой обитания микроорганизмов, а является транзитной средой.

Микрофлору воздуха можно условно разделить на постоянную, часто встречающуюся, и переменную, представители которой, попадая в воздух из собственных им мест обитания, недолго сохраняют жизнеспособность. Постоянно в воздухе обнаруживаются пигментообразующие кокки, палочки, дрожжи, грибы, актиномицеты. В воздухе крупных городов количество микроорганизмов больше, чем в сельской местности. Дождь и снег способствуют очищению воздуха от микробов.

В воздухе закрытых помещений микробов значительно больше, чем в открытых воздушных бассейнах, особенно зимой, при недостаточном



проветривании. Состав микрофлоры и количество микроорганизмов, обнаруживаемых в 1 м<sup>3</sup> воздуха, зависят от санитарно-гигиенического режима, числа находящихся в помещении людей, состояния их здоровья и других условий.

В воздух могут попадать и патогенные микроорганизмы от животных, людей (больных и носителей).

Для микробиологического исследования воздуха пользуются методами, в основу которых положены оседание (седиментация) и аспирация. При помощи седиментационных методов можно получить общее представление о встречающихся в воздухе микроорганизмов. Аспирационные методы дают возможность определить не только качественное, но и количественные содержание бактерий в определенном объеме воздуха.

### *Метод оседания*

Простейший метод бактериологического исследования воздуха. Это метод оседания, который основан на оседании бактериальных частиц и капель под влиянием силы тяжести на поверхности агара открытой чашки Петри. Чашки с МПА экспонируют 5-10-15 минут в зависимости от предполагаемого бактериального загрязнения. Метод оседания не дает количественного представления о содержании микрофлоры в воздухе, так как на открытых чашках плохо улавливаются тонкодисперсные фракции бактериальных капель и пылевых частиц, которые оседают или прибываются токами воздуха к поверхности среды.

Метод оседания может быть использован в тех случаях, когда отсутствуют более совершенные приборы и методы или когда нет источника электроэнергии. Для расчета микробного числа воздуха используют следующую формулу:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{v \cdot 10 \cdot t},$$

где X – количество микробов в 1 м<sup>3</sup> воздуха; a - количество колоний в чашке; v – площадь чашки (табл. 3); t – время экспозиции; 5 – время экспозиции; 10 – объем воздуха из которого происходит оседание микробов за 5 мин., л; 100 – площадь, на которую происходит оседание, см<sup>2</sup>; 1000 – объем воздуха, л.

Площадь чашки в зависимости от диаметра

Диаметр чашки, см	Площадь чашки, см <sup>2</sup>
8	50
9	63
10	78,5

Простейшие аспирационные методы основаны на улавливании бактерий жидкостью.

Через сосуд с определенным объемом изотонического раствора NaCl или водопроводной воды просасывают (с помощью насоса) определенный объем воздуха.

Затем проводят высеив на МПА по 0,1-0,2 мл улавливающей жидкости.

Совокупность множества микробиоценозов, характеризующихся определенными взаимосвязями и местом обитания, составляет *нормальную микрофлору человека*. Нормальная микрофлора рассматривается как самостоятельный экстракорпоральный орган с определенной анатомической структурой и функциями.

Виды нормальной микрофлоры:

- *резидентная* – постоянная (естественная) – представлена относительно стабильным составом микроорганизмов, обычно обнаруживаемых в определенных местах тела человека определенного возраста; после нарушений состав этой флоры быстро восстанавливается;
- *транзитная* – временно попавшая, не характерна для данного биотопа; попадает на кожу или слизистые оболочки из окружающей среды, не вызывая заболеваний. Она представлена непатогенными, т.е. сапрофитными или потенциально патогенными (условно-патогенными) микроорганизмами.

Нормальная микрофлора формируется с рождения. На ее формирование оказывают влияние микрофлора матери и внутрибольничной среды, характер вскармливания.

Дисбактериоз (дисбиоз) – любые количественные или качественные изменения типичной для данного биотопа нормальной микрофлоры человек, возникающие в результате воздействия на макро- или микроорганизм различных неблагоприятных факторов.

*Микробиологическими показателями дисбиоза служат:*

- 1) снижение численности одного или нескольких постоянных видов;
- 2) потеря бактериями тех или иных признаков или приобретение новых;

- 3) повышение численности транзиторных видов;
- 4) появление новых, несвойственных данному биотопу видов;
- 5) ослабление антагонистической активности нормофлоры.

*Лабораторная диагностика дисбактериоза:* основной метод – бактериологическое исследование, дополнительный – хроматография жирных кислот в исследуемом материале. Каждому роду бактерий соответствует свой спектр жирных кислот. С отдельных участков тела человека делают мазок и изучают содержащиеся микроорганизмы.

Лечение дисбиоза должно быть комплексным и направленным в основном на устранение причин дисбактериоза и восстановление нормофлоры. При дисбактериозе проводится коррекция состава микрофлоры с помощью:

- а) эубиотиков – препараты, содержащие живые бактерициногенные штаммы нормальной микрофлоры (колибактерин, бификол, бифидумбактерин); б) пробиотиков – вещества немикробного происхождения и продукты питания, содержащие добавки, стимулирующие собственную нормальную микрофлору (олигосахариды, муцин, лактоферин).

### **Задание на занятие**

- 1) Определить содержание микроорганизмов в воздухе лабораторных помещений методом седиментации.

### **Задание на самостоятельную работу**

Аллохтонная микрофлора – \_\_\_\_\_

Аутохтонная микрофлора – \_\_\_\_\_

Общее микробное число – \_\_\_\_\_

#### **Санитарно-микробиологическое исследование почвы:**

Характер загрязнения – \_\_\_\_\_

Санитарно-показательные микроорганизмы – \_\_\_\_\_

#### **Санитарно-микробиологическое исследование воздуха:**

Характер загрязнения – \_\_\_\_\_

Санитарно-показательные микроорганизмы – \_\_\_\_\_

Примеры инфекционных заболеваний, которые могут передаваться через воздух:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_

**Санитарно-микробиологическое исследование воды поверхностных водоемов:**

Характер загрязнения – \_\_\_\_\_

Санитарно-показательные микроорганизмы – \_\_\_\_\_

Примеры инфекционных заболеваний, которые могут передаваться через воду:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_

Титр микроорганизмов – \_\_\_\_\_

Индекс микроорганизмов – \_\_\_\_\_

**Значение нормальной микрофлоры тела человека:**

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_

Дисбактериоз – это \_\_\_\_\_

**Лабораторная диагностика кишечника:**

*Исследуемый материал* – фекалии не позже 2 часов после дефекации.

*Метод исследования* – бактериологический: посев исследуемого материала с целью определения количества микроорганизмов наиболее значимых групп.

*Этапы исследования:*

I – приготовление серийных разведений суспензии испражнений;

II – посев на питательные среды из разведений;

III – учет результатов посев и ориентировочная идентификация микроорганизмов;

IV – оценка результатов.

**Причины дисбактериозов:**

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_

**Пути коррекции дисбактериоза:**

Эубиотики – \_\_\_\_\_

Пробиотики – \_\_\_\_\_

Пребиотики – \_\_\_\_\_

**Вывод.**

**ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ:**

1. Предмет изучения медицинской микробиологии и ее значение для практического здравоохранения.
2. Система и номенклатура микроорганизмов.
3. Виды микробиологических лабораторий, правила работы в них. Методы микробиологии.
4. Техника приготовления мазков. Простые и сложные методы окраски. Механизм окрашивания мазков. Тинкториальные свойства микроорганизмов.
5. Световой микроскоп, его основные характеристики. Виды световой микроскопии (темнопольная, фазово-контрастная, люминисцентная). Электронная, атомно-силовая микроскопия. Иммерсионная микроскопия, принцип. Порядок проведения иммерсионной микроскопии. Электронная микроскопия.
6. Формы и размеры бактерий.
7. Химический состав и физические свойства бактериальных клеток.

8. Структура бактериальной клетки: ядерный аппарат, цитоплазма, рибосомы. Их строение, функции и методы выявления.
9. Оболочка бактерий: цитоплазматическая мембрана, клеточная стенка, капсула. Строение, функции и методы выявления.
10. Жгутики и реснички. Их строение, функции и методы выявления.
11. Споры. Их роль и особенности строения. Спорообразование. Методы выявления спор.
12. Понятие анаболизма и катаболизма.
13. Механизм питания бактерий.
14. Аутотрофы и гетеротрофы, ауксотрофы и прототрофы.
15. Требования к искусственным питательным средам.
16. Классификация питательных сред.
17. Простые и сложные питательные среды.
18. Стерилизация и дезинфекция. Методы стерилизации.
19. Методика посева на искусственные питательные среды.
20. Фазы роста на искусственной питательной среде.
21. Выделение чистой культуры аэробов.
22. Механизм дыхания бактерий. Аэробы и анаэробы.
23. Методы культивирования анаэробных бактерий: питательные среды, аппаратура.
24. Выделение чистой культуры анаэробов.
25. Идентификация выделенной чистой культуры бактерий.
26. Основные группы ферментов бактерий.
27. Определение сахаролитических свойств бактерий.
28. Определение протеолитических ферментов.
29. Выделение пептолитических ферментов.
30. Ферменты агрессии: коагулаза, гиалуронидаза, нейроминидаза, ДНК – аза, гемолизин.
31. Классификация вирусов. Понятие вируса и вириона.
32. Морфология вирусов. Функции ДНК и РНК (- нить, + нить).
33. Химический состав нуклеопротеида. Ферменты.
34. Методы культивирования вирусов.
35. Взаимодействие вируса с клеткой. Механизм транскрипции и репликации вирусного генома.
36. Механизм интеграции ДНК и РНК вируса в геном клетки.
37. Пути передачи вирусных инфекций.
38. Морфология фагов.
39. Механизм взаимодействия фагов с бактериальной клеткой.
40. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения.

41. Титр фага. Методы определения.
42. Принцип получения культуры фагов. Применение в медицине.
43. Организация генетического аппарата у бактерий. Генотип и фенотип.
44. Внехромосомные факторы: плазмиды у бактерий, их роль, транспозоны, Is – последовательности.
45. Формы изменчивости у микроорганизмов.
46. Мутации, виды мутаций у бактерий.
47. Генетические рекомбинации у бактерий (трансформация, трансдукция, конъюгация).
48. Понятие о модификациях.
49. Практическое использование генной инженерии.
50. Теоретическое и практическое значение учения о генетике.
51. Понятие об антибиотиках, их открытие.
52. Классификация антибиотиков: по происхождению, способу получения, действию на микроорганизм, антимикробному спектру.
53. Механизм действия антибиотиков на клетки микроорганизмов.
54. Принцип получения антибиотиков.
55. Единицы активности антибиотиков.
56. Механизм устойчивости бактерий к антибиотикам и способы борьбы с ними.
57. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
58. Побочные действия антибиотиков.
59. Экология микроорганизмов. Формы межвидовых взаимоотношений.
60. Санитарная микробиология, ее значение и методы.
61. Микрофлора воды, санитарно – микробиологические показатели: коли – титр, коли – индекс, микробное число, методы их определения.
62. Микробиоценозы почвы. Оценка санитарно – микробиологического состояния почвы: показатели, методы их определения.
63. Микрофлора воздуха, методы определения санитарно – микробиологического состояния.
64. Оценка санитарно – микробного состояния пищевых продуктов и объектов окружающей среды.
65. Нормальная микрофлора организма человека и ее значение. Гнотобиология.
66. Факторы, нарушающие нормальную микрофлору организма. Дисбиоз, пути его устранения.
67. Понятие инфекционного процесса и инфекционной болезни. Формы инфекционного процесса.

68. Экзогенные и эндогенные инфекции. Понятие “Входных ворот и инфицирующей дозы”. Пути передачи инфекции.
69. Очаговый и генерализованный инфекционный процесс. Пути распространения инфекций в организме. Понятие: бактериемия, вирусемия, токсинемия, сепсис, септикопиемия.
70. Моно - микстиинфекция, первичная и вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив.
71. Классификация инфекционного процесса: по источнику, течению, тяжести, по распространенности.
72. Периоды инфекционного заболевания.
73. Патогенность и вирулентность микроорганизмов, единицы измерения вирулентности.
74. Факторы вирулентности: адгезия, колонизация, пенетрация, инвазия. Их характеристики. Способность подавлять защитные силы макроорганизма.
75. Токсичность. Экзотоксины. Классификация по механизму действия.
76. Эндотоксины. Химическая природа, действие на макроорганизм.
77. Роль макроорганизма в возникновении инфекционного процесса.

## **ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №6**

### **Тема: ИММУНИТЕТ, КЛАССИФИКАЦИЯ. ИММУННАЯ СИСТЕМА. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ**

**Цель:** получение знаний об иммунитете, антигенах и антителах, методах их выявления.

**Задачи:**

1. Рассмотреть понятия антигена и антитела.
2. Изучить виды иммунитета.
3. Ознакомиться с основными серологическими реакциями.

#### **Основные вопросы темы занятия:**

1. Понятие иммунитета. Современное определение иммунитета.
2. Классификация иммунитета.
3. Понятие антигена, химическая природа.
4. Антигены бактерий.



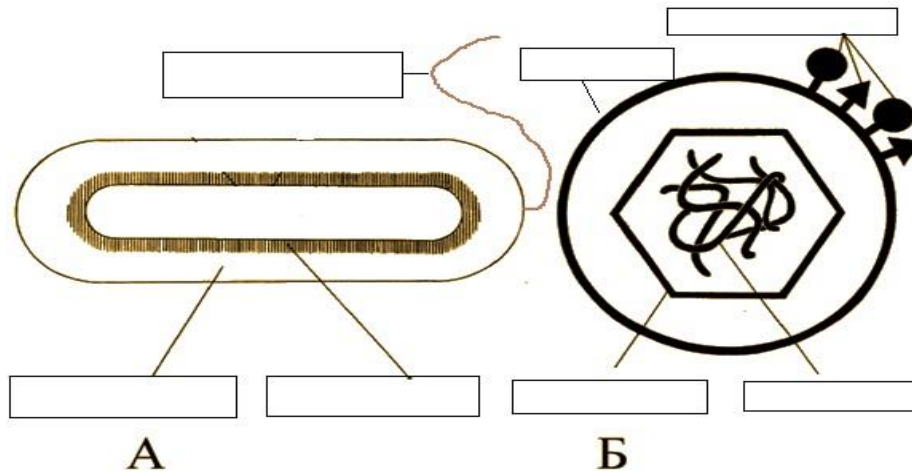
5. Антигены вирусов.
6. Понятие антитела, структура антител.
7. Серологические реакции - понятие, применение.
8. Реакция агглютинации - определение, компоненты, применение.
9. Реакция преципитации - определение, компоненты, применение.
10. Реакция связывания комплемента - компоненты, фазы, применение.

### Задание на самостоятельную работу

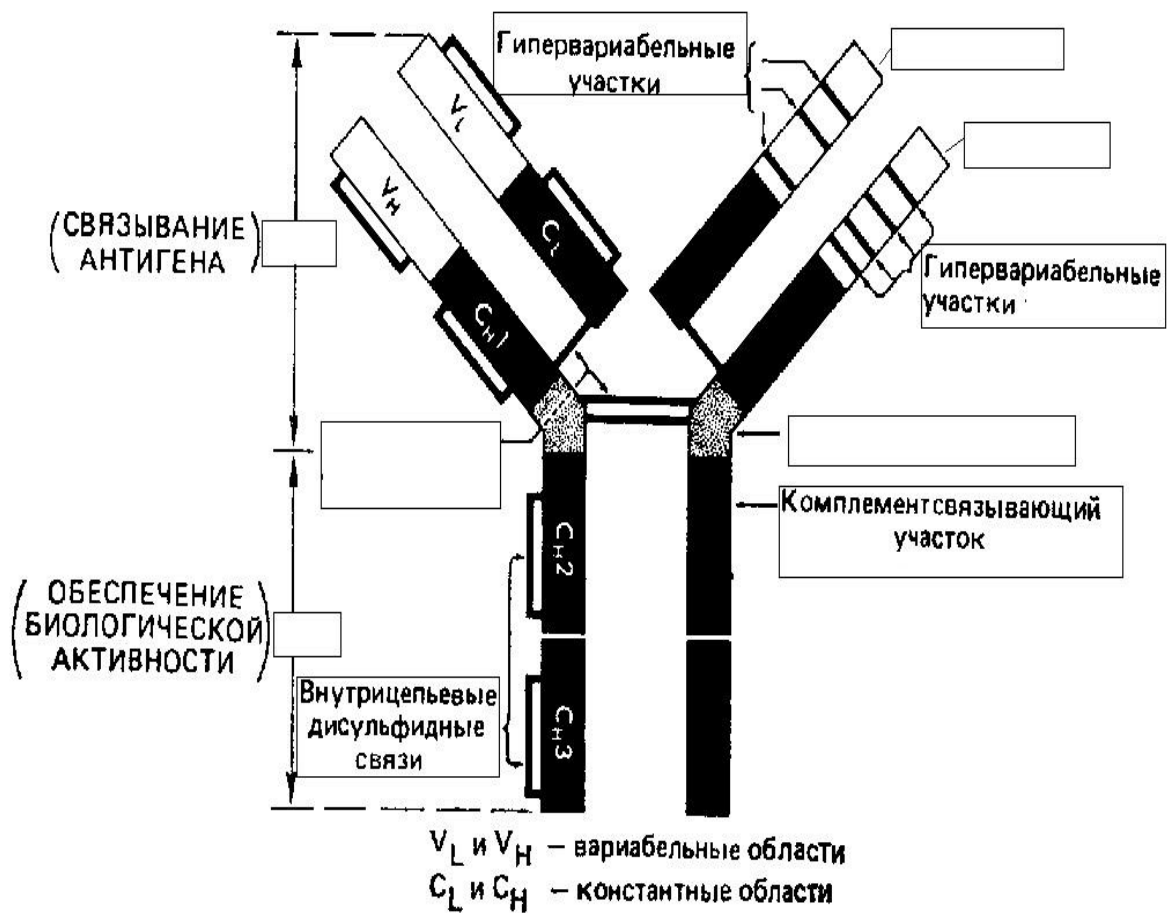
#### 1. Заполните таблицу.

Вид иммунитета	Определение	Пример
Врожденный		
Приобретенный		
Естественный активный		
Естественный пассивный		
Искусственный активный		
Искусственный пассивный		
Стерильный		
Нестерильный		
Стерильный		
Нестерильный		
Антитоксический		
Антимикробный		
Клеточный		
Гуморальный		

2. Обозначьте на рисунке антигены бактерий (А) и антигены вирусов (Б).

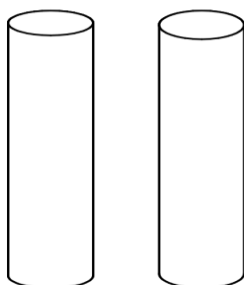


3. Зарисуйте структуру иммуноглобулина. В схемах допишите элементы строения молекулы иммуноглобулина.



#### 4. Серологические реакции.

а) реакция агглютинации – \_\_\_\_\_

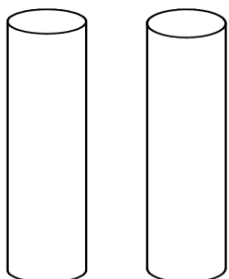


(+) феномен агглютинации – образование агрегатов (крупнохлопчатых при наличии у бактерий жгутиков или мелкозернистых при их отсутствии)

(-) феномен агглютинации – равномерная муть

Зарисовать рисунок.

б) реакция преципитации- \_\_\_\_\_



Компоненты реакции:

Преципитин- \_\_\_\_\_

Преципитиноген \_\_\_\_\_

Преципитат \_\_\_\_\_

Зарисовать рисунок.

в) реакция связывания комплемента (РСК)

1 фаза

2 фаза

+                      +                      =                      +                      =

Положительный результат

Компоненты реакции:

АГ – \_\_\_\_\_

АТ – \_\_\_\_\_

Комплемент – \_\_\_\_\_

Зарисовать рисунок.

**Вывод.**

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №7

### ТЕМА: КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ВОЗБУДИТЕЛИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПАТОГЕННЫЕ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ

**Цель:** формирование знаний о возбудителях внутрибольничных инфекций, свойствах патогенных кокков и освоение методов лабораторной диагностики вызываемых ими заболеваний.

**Задачи:**

1. Изучить биологические свойства возбудителей внутрибольничных инфекций и пиогенных кокков.
2. Изучить эпидемиологию и патогенез вызываемых ими заболеваний.
3. Рассмотреть методы лабораторной диагностики, лечения и специфической профилактики инфекций.

**Основные вопросы темы занятия:**

1. Клиническая микробиология, её задачи.
2. Причины возникновения внутрибольничных инфекций. Классификация в/б инфекций.
4. Основные возбудители госпитальных инфекций. Источники и пути распространения госпитальных инфекций.
5. Характеристика условно - патогенных микроорганизмов, возбудители в/б инфекций. Особенности в/б инфекций.
6. Микробиологическая диагностика и профилактика в/б инфекций.
7. Классификация клебсиелл и их роль в возникновении внутрибольничных инфекций.
8. Биологические свойства клебсиелл: морфология, тинкториальные свойства, культивирование, биохимические свойства, антигены, токсины, другие факторы патогенности.
9. Заболевания, вызываемые клебсиеллами. Эпидемиология и патогенез.
10. Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика клебсиеллезозов.
11. Классификация и биологические свойства протеев.
12. Заболевания, вызываемые протееями. Эпидемиология и патогенез.

13. Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика протейной инфекции.
14. Роль синегнойной палочки в возникновении госпитальных инфекций, классификация. Биологические свойства синегнойных палочек.
15. Эпидемиология синегнойной инфекции. Вызываемые заболевания.
16. Микробиологическая диагностика, лечение и спец. профилактика синегнойной инфекции.
17. Биологические свойства *Helicobacter pylori*.
18. Эпидемиология. Вызываемые заболевания и патогенез.
19. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика вызываемых заболеваний.
20. Общая характеристика гноеродной группы кокков.
21. Таксономия и биологические свойства стафилококков.
22. Эпидемиология и патогенез заболеваний, вызываемых стафилококками.
23. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика стафилококковых инфекций.
24. Таксономия и биологические свойства стрептококков.
25. Эпидемиология и патогенез стрептококковых инфекций, иммунитет.
26. Стрептококки - возбудители скарлатины и ревматизма.
27. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика стрептококковых инфекций.
28. Таксономия и биологические свойства менингококков.
29. Эпидемиология и патогенез менингококковых инфекций, иммунитет.
30. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика менингококковых инфекций.
31. Таксономия и биологические свойства гонококков.
32. Эпидемиология и патогенез гонококковых инфекций, иммунитет.
33. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика гонококковых инфекций.

Внутрибольничными инфекциями называют инфекции, возникающие после поступления больного в больницу. Они связаны с оказанием медицинской помощи. Эти инфекции называют еще госпитальными, нозокомиальными и ятрогенными (от греч. *jatros*- врач, *genus* - порождение).

Внутрибольничные инфекции появились с открытием первых больниц. Заболеваемость послеродовой горячкой, сепсисом после хирургических операций, тяжело протекающие диареи со смертельным исходом были очень широко распространены, и только в конце XIX века с разработкой методов антисептики, предложенный Зиммельвейсом и

Листером, а также асептики, введенный Пастером и Коком, удалось добиться снижения заболеваемости госпитальными инфекциями.

Новый период нарастания госпитальных инфекций наступает с началом эры антибиотиков и продолжается до настоящего времени. Уже в начале 50-х годов начинается новая волна стафилококковых инфекций. Их характерной особенностью было то, что они представляли угрозу в основном для стационарных больных. Начиная с 70-х годов на первое место выходят заболевания, вызываемые грамотрицательными бактериями. Возникли тяжелые эпидемии энтероколита среди новорожденных, вызываемые неизвестными до этого патогенными штаммами *E. coli*.

В настоящее время все больше госпитальной инфекций вызывается условно патогенными микроорганизмами, которые, как правило, обладают устойчивостью к лекарственным препаратам, что снижает эффективность химиотерапии, с каждым годом увеличивается количество таких инфекций, Такое положение обуславливает необходимость постоянный микробиологический исследований в клиниках. Возникает клиническая микробиология как раздел медицинской микробиологии, изучающий заболевания микробной этиологии, возникающие у больных в неинфекционных клиниках. Клиническая микробиология решает следующие задачи:

1. Исследование микробиологических аспектов внутрибольничных инфекций, дисбактериозов, лекарственной устойчивости возбудителей.
2. Изучение биологии и роли условно патогенных микроорганизмов в этиологии и патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний человека.
3. Разработка методов диагностики, терапии и профилактики микробных заболеваний, возникающих в неинфекционных стационарах.
4. Микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятиями в стационарах.

Патогенные кокки вызывают воспалительные процессы в различных органах с образованием гноя, поэтому их называют гноеродными кокками. Объединяет их шаровидная или близкая к сфере форма клеток. Неподвижны, не образуют спор, могут образовывать микрокапсулу.

Гр<sup>+</sup> кокки (стафило - и стрепто-) не требовательны к средам, высоко биохимически активны, не обладают тропностью к тканям. Гр<sup>-</sup> кокки (менинго - и гоно -) требовательны к питательным средам, мало активны биохимически, органотропны.

Сем. *Micrococcaceae*. Род *Staphylococcus*.

*S. aureus* - патогенные; *S. epidermidis* - условно-патогенные; *S. saprophyticus* - условно-патогенные. Шаровидные. Неподвижны. Gr+. Факультативные анаэробы. К питательным средам не требовательны. Биохимически очень активны. Антигенными свойствами обладают вещества клеточной стенки: пептидогликан, тейхоевые кислоты, белок А, а также полисахаридная капсула. Имеется около 30 белковых типоспецифических антигенов. Выделяют следующие экзотоксины: гемолизины, энтеротоксины, эксфолиативные токсины. Источники: больной, бактерионоситель. Пути передачи: контактно-бытовой, воздушно-капельный, воздушно - пылевой, алиментарный. Стафилококки вызывают местные гнойно - воспалительные процессы в коже, подкожной клетчатке, лимфатических узлах (фурункулы, карбункулы, абсцессы, пиодермии, лимфадениты, маститы). Поражают ухо, носоглотку (отит, ангина, гайморит); органы зрения (конъюнктивит); ЦНС (менингит, абсцессы мозга); сердечно - сосудистую систему (эндокардит, миокардит); органы дыхания (бронхиты, пневмонии, плевриты); ЖКТ (энтероколит, пищевые отравления); холецистит, артрит и т.д. Исследуемый материал: гной, кровь, мокрота, фекалии, промывные воды желудка и др.

В диагностике могут использоваться микроскопический метод, бактериологический метод, серологический метод (РА, РНГА, РН, ИФА) биологический метод применяют при диагностике пищевых отравлений (биопроба на котятах). Для лечения стафилококковых инфекций применяют антибиотики, стафилококковый анатоксин, противостафилококковый иммуноглобулин, антистафилококковую плазму. Для лечения хронических инфекций применяют аутовакцину. Для санации бактерионосителей применяют бактериофаги.

Сем. *Streptococcaceae*. Род *Streptococcus*

*S.pyogenes* - патогенный. *S.pneumoniae* - условно-патогенный. *S.faecalis* - условно-патогенный. Неподвижны. Gr+. Растут на питательных средах, содержащих глюкозу, сыворотку или кровь. Биохимически активны. Образуют несколько типов экзотоксинов: О - стрептолизин, S - стрептолизин, лейкоцидин. Источник-больной, бактерионоситель. Обитают в полости рта, на слизистых оболочках верхних дыхательных путей, на коже, в кишечнике. Поэтому возможны эндогенные инфекции. Пути передачи: воздушно-капельный, контактно-бытовой. В окружающей среде менее устойчивы, чем стафилококки. Вызывают различные гнойно-воспалительные процессы. В патогенезе играют роль адгезины, антихемотоксический фактор, иммуноглобулиновый Fc-рецептор: капсула; М-белок; ферменты агрессии и токсины.

Скарлатина - острое инфекционное заболевание. Чаще болеют дети от 2 до 7 лет. Вызывается  $\beta$ -гемолитическим стрептококком группы А, обладающим способностью продуцировать эритрогенный токсин. После перенесенной инфекции остается прочный антитоксический иммунитет. У лиц, имеющих антитела, реакция отсутствует. Ревматизм – воспаление соединительной тканей преимущественно сердца и суставов. Вызывается стрептококками серогруппы А при участии аутоиммунных процессов. Исследуемый материал: отделяемое зева, ран, гной, кровь. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический. При ревматизме определяют антигиалуронидазу, антистрептолизин, антистрептокиназу, анти-ДНКазу. При скарлатине – проба Дика. Применяют ИФА и РКоА. Лечение стрептококковых инфекций проводится антибиотиками. Специфическая профилактика не разработана.

Сем. *Neisseriaceae*, Род *Neisseria*, Вид *N. meningitidis*. Клетки бобовидной формы. Неподвижны. Гр-. Аэробы или факультативные анаэробы. Биохимически малоактивны. По полисахаридному капсульному антигену делят на серогруппы (12 серогрупп: А, В» С и т.д.), по белковому - на серовары. Заболевания вызывают в основном менингококки серогрупп А, В, С. Эпидемические вспышки обусловлены чаще менингококками серогруппы А и С. При массовой гибели менингококков выделяется эндотоксин. Эндотоксин оказывает действие на блуждающий нерв, возникает рвота, ацидоз. Источник: больные, бактерионосители. Вегетируют на слизистой оболочке носоглотки. Распространено носительство. В окружающей среде не устойчивы. Путь передачи – воздушно-капельный. Основные формы менингококковой инфекции: назофарингит, менингит, менингококкемия. Человек обладает устойчивостью к менингококкам. У большинства заболевших инфекция протекает в форме назофарингита. Основной путь распространения по организму – гематогенный. Воспалительный процесс локализуется чаще всего по поверхности больших полушарий и на основании головного мозга, но нередко распространяется и на спинной мозг. После перенесенного заболевания (генерализованные формы) формируется прочный иммунитет. Исследуемый материал: отделяемое носоглотки (при назофарингите и на носительство), спинно-мозговая жидкость (при симптомах менингита), кровь (при подозрении на менингококкемию). Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический. Лечение проводят антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. Для специфической профилактики применяют менингококковую химическую вакцину из полисахаридных антигенов А и С.



Сем. Neisseriaceae, Род Neisseria, Вид N.gonorrhoeae. Диплококки бобовидной формы. Под действием лекарственных веществ образуют H и L-формы. Гр-. Аэробы или факультативные анаэробы. К питательным средам очень требовательны. Биохимически не активны. Антигены: протеиновый и полисахаридный. Диагностического значения не имеют. Эндотоксин играет основную роль в воспалении. Источник: больной, бактерионоситель. Болеет только человек. Вне организма быстро погибают. Пути передачи: половой, контактно-бытовой (реже). Вызывают острую и хроническую гонорею и бленнорею. Во время заболевания обнаруживаются антитела. При выздоровлении иммунитет теряется. Материал для диагностики: отделяемое уретры, влагалища, конъюнктивы; при хронической гонорее – осадок мочи, сыворотка крови. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический. Специфическая профилактика гонореи не проводится. Гоновакцина используется для диагностики и лечения. Для профилактики бленнореи новорожденным на конъюнктиву глаза закапывают масляный раствор пенициллина, азотнокислое серебро. Лечат гонококковую инфекцию антибиотиками.

### Задание на занятие

1. Приготовить мазки из чистой культуры стафилококков, окрасить по Граму, произвести микроскопию иммерсионной системой. Сделать рисунок.
2. Изучить морфологию гонококков в фиксированных мазках - препаратах. Сделать рисунок.
3. Решить задачу.

*Задача №1.* У больного после чистой плановой операции из отделяемого послеоперационной раны выделена культура стафилококка. Можно ли считать данный микроб возбудителем нагноения, осложнившего заживление раны? Как это проверить? Как выбрать антибиотики для лечения?

*Задача №2.* Больной с хронической стафилококковой инфекцией, которая осложнилась стафилококковым сепсисом, долго и безуспешно лечился различными антибиотиками и сульфамидами. Почему данное лечение оказалось неэффективным? Какими исследованиями можно проверить причину неэффективности лечения? Какие препараты можно рекомендовать для лечения больного в подобной ситуации, как их подобрать для больного?

*Задача №3.* Вследствие небольшой травмы (ссадины) на ноге у

больного возникло рожистое воспаление. Из анамнеза выяснилось, что он страдает хроническим тонзиллитом. На основании каких микробиологических данных можно установить связь между рожистым воспалением и носительством стрептококка в зеве? Какие дополнительные исследования должны быть проведены для решения этого вопроса? Как подобрать антибактериальные препараты для лечения данного заболевания?

*Задача №4.* Больного с первичной атакой ревматизма госпитализировали для обследования с целью выявления первичного очага. Какие бактериоскопические исследования должны быть проведены в лаборатории? Какими методами можно оценить степень специфической стрептококковой сенсибилизации и аутоенсибилизации?

*Задача №5.* Больного с подозрением на заболевание пневмонией доставили в больницу. Какие микроорганизмы могут вызвать пневмонию? В каких случаях и с какой целью проводят микробиологическое исследование при подозрении на пневмонию? Какой материал направляют на исследование и каковы правила взятия этого материала? Как доказать этиологическое значение выделенного микроорганизма?

### Задание на самостоятельную работу

**1. Дайте определение.**

Внутрибольничные инфекции - \_\_\_\_\_

Источники внутрибольничных инфекций - \_\_\_\_\_

Пути распространения внутрибольничных инфекций - \_\_\_\_\_

**2. Заполните таблицу.**

#### Классификация госпитальных инфекций

Тип инфекции	Примеры возбудителей

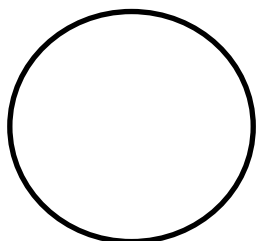
**3. Опишите методы лабораторной диагностики протей, клебсиелл:** \_\_\_\_\_

**4. Дайте определение.**

*Сенсис*- \_\_\_\_\_

*Бактериемия*- \_\_\_\_\_

5. Сделайте рисунок мазка стафилококка.



→ окраска по Граму  
Увеличение х \_\_\_\_

6. Зарисуйте колонии стафилококков на кровяном агаре и ЖСА.



Кровяной агар



ЖСА

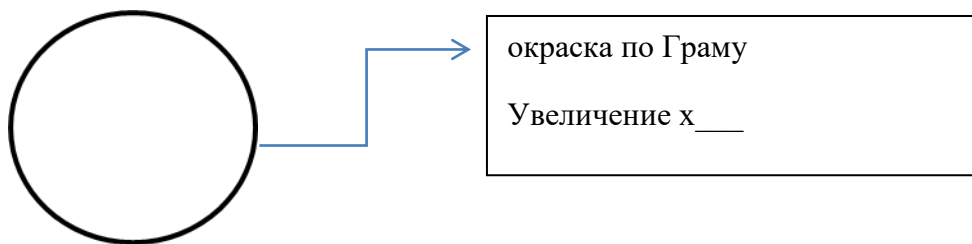
7. Заполните таблицу.

Упрощенная классификация стафилококков

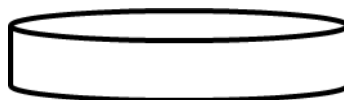
Признак	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Плазмокоагулаза			
Анаэробное сбраживание маннита			
ДНК-аза			
Чувствительность к новобиоцину			
Роль в патологии человека			

8. Перечислите факторы вирулентности стафилококков: \_\_\_\_\_

9. Сделайте рисунок мазка стрептококков.



10. Зарисуйте колонии стрептококков на кровяном агаре.



Кровяной агар

11. Заполните таблицу.

Упрощенная классификация стрептококков, встречающихся у человека

Группы стрептококков	Основные виды	Гемолиз	Серогруппа по Ленсфильд	Роль в патологии человека
Стрептококки гр. А	<i>S. pyogenes</i>		А	
Стрептококки гр. В	<i>S. agalacticae</i>		В	
Энтерококки	<i>S. faecalis</i> <i>S. faecium</i>		Д	
Пневмококки	<i>S. pneumoniae</i>			
Зеленящие стрептококки	<i>S. sanguis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. mutans</i>			

12. Перечислите факторы вирулентности *S. pyogenes*: \_\_\_\_\_

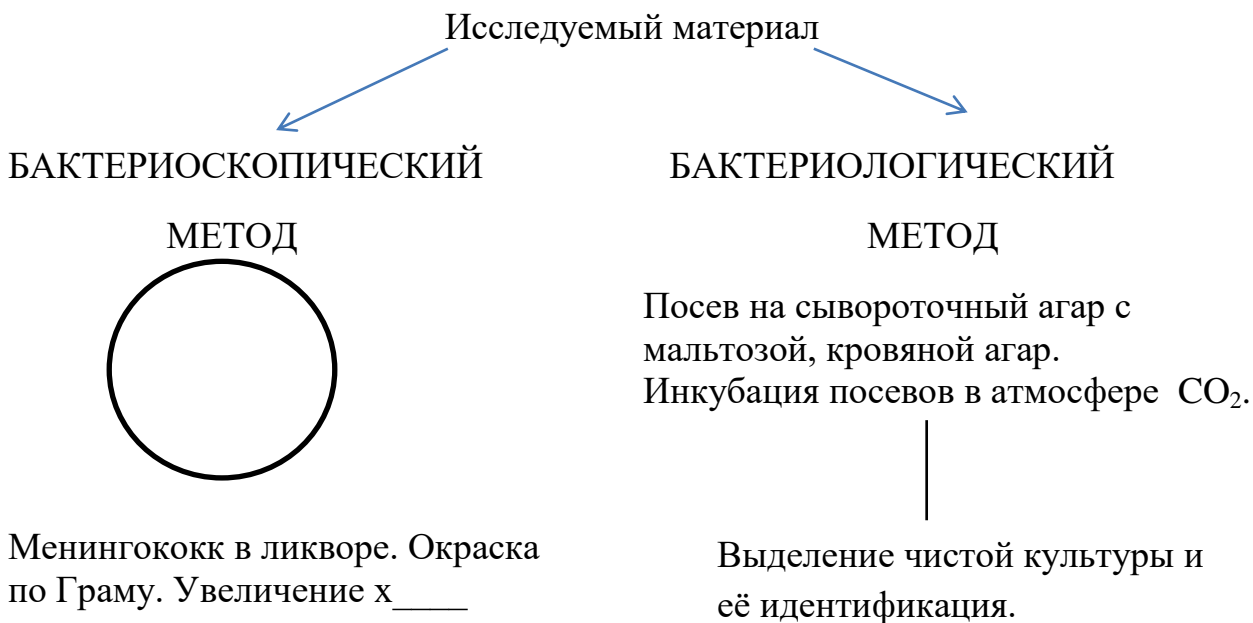
13. Заполните таблицу.

	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Источник инфекции		
Механизм передачи		
Вызываемые заболевания		

**14. Заполните схему.**

**Лабораторная диагностика менингококкового менингита**

Исследуемый материал- \_\_\_\_\_



1. по биохимическим свойствам

	Окс	Глю	Лак	Мал	Сах
<i>N. meningitides</i>					
<i>N. gonorrhoeae</i>					

2. по антигенным свойствам РА с сыворотками против 4 основных (А, В, С, D) и нескольких дополнительных Е, F, G) серогрупп.

**15. Перечислите основные диагностические препараты и их компоненты для серодиагностики гонореи.**

Исследуемый материал \_\_\_\_\_

Диагностические препараты:

1. \_\_\_\_\_ содержит \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_ содержит \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_ содержит \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_ содержит \_\_\_\_\_

**Вывод.**

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №8

### Тема: ВОЗБУДИТЕЛИ ЭШЕРИХИОЗОВ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДИЗЕНТЕРИИ. ВОЗБУДИТЕЛИ БРЮШНОГО ТИФА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗНЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ. ВОЗБУДИТЕЛИ ХОЛЕРЫ

**Цель:** формирование знаний о биологических свойствах патогенных энтеробактерий и вибрионов, освоение методов микробиологической диагностики вызываемых ими заболеваний.

#### **Задачи:**

1. Изучить биологические свойства патогенных энтеробактерий и холерных вибрионов.
2. Изучить эпидемиологию и патогенез вызываемых ими заболеваний.
3. Освоить методы микробиологической диагностики, лечения и специфической профилактики колиэнтеритов, дизентерии, брюшного тифа, сальмонеллеза, холеры.

#### **Основные вопросы темы занятия:**

1. Общая характеристика семейства энтеробактерий.
2. Таксономия и классификация эшерихий, дифференциальные признаки патогенных и условно-патогенных кишечных палочек.
3. Условно-патогенные эшерихии: их роль в жизнедеятельности организма человека, вызываемые заболевания.
4. Биологические свойства эшерихий.
5. Эпидемиология и патогенез колиэнтерита.
6. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика колиэнтерита.
7. Таксономия и биологические свойства шигелл.
8. Эпидемиология и патогенез дизентерии.
9. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика дизентерии.
10. Таксономия и биологические свойства сальмонелл-возбудителей брюшного тифа и паратифов.
11. Эпидемиология и патогенез тифо - паратифозных заболеваний, иммунитет. Микробиологическая диагностика брюшного тифа по неделям заболевания.
12. Специфическая профилактика и лечение тифо - паратифозных заболеваний.
13. Таксономия и биологическая характеристика возбудителей

сальмонеллезов.

14. Эпидемиология и патогенез сальмонеллезов. Иммунитет.
15. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика сальмонеллезов.
16. Классификация вибрионов. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства возбудителей холеры.
17. Биохимические свойства и антигены холерных вибрионов.
18. Эпидемиология и патогенез холеры, иммунитет.
19. Бактериологический метод диагностики холеры.
20. Экспресс-метод и серологический метод диагностики холеры. Специфическая профилактика холеры.

Семейство *Enterobacteriaceae* включает неспорообразующие палочки, обитающие в кишечнике человека и животных. Семейство большое, объединяет 30 родов. Наибольшее значение в патологии человека имеют представители родов: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia*.

Род *Escherichia*, вид *E.coli*. Условно-патогенные *E.coli* – нормальные обитатели кишечника человека. В норме условно-патогенные кишечные палочки заболеваний не вызывают, но при иммунодефицитах могут стать причиной эндогенных инфекций. Короткие палочки. Без спор. Грамотрицательны. К питательным средам не требовательны. Для дифференциальной диагностики разработано много сред – Эндо, Левина, Плоскирева, Ресселя и др., в состав которых входит лактоза. Биохимически активны. По O - соматическому антигену делят на 170 серогрупп. Действие энтеротоксинов направлено на активизацию клеточной аденилатциклазы, что приводит к повышению проницаемости стенки тонкой кишки и увеличению выхода жидкости в ее просвет – диарее. Источник: больные, бактерионосители. Пути передачи: фекально-оральный (алиментарный, контактно-бытовой). Чаще болеют дети. Материал для диагностики: испражнения, кровь, пищевые продукты, смывы с рук и предметов, а также, в зависимости от локализации процесса, - моча, гной из ран, желчь. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический. Специфическая профилактика не разработана. После перенесенного заболевания иммунитет слабо выражен. Для лечения используют антибиотики, препараты микробов-антагонистов (бифидумбактерин, лактобактерин и др.), бактериофаги.

Род *Shigella*. Виды *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*.

Палочки с закругленными концами. Гр-. К питательным средам не

требовательны. Ферментируют углеводы короткого ряда Гисса до кислоты. Имеет О - соматический антиген, К - капсульный полисахаридный. Эндотоксин. Источник: больной или бактерионоситель. Пути заражения: алиментарный, контактно-бытовой. Заболевание – дизентерия. Исследуемый материал: испражнения, сыворотка крови. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологические, аллергический. Перенесенное заболевание напряженного иммунитета не формирует. Специфическая профилактика не проводится, вакцины малоэффективны. В лечении используют нитрофурановые препараты, поливалентный бактериофаг, эубиотики.

Под Salmonella. Виды S. typhi, S. paratyphi A, S. paratyphi B.

Сальмонеллы у человека вызывают брюшной тиф, паратифы и гастроэнтероколиты - сальмонеллезы. Палочки с закругленными концами. Гр-. Растут на простых питательных средах. У сальмонел обнаружены три антигена: О- антиген - липополисахаридной природы; Н-антиген - белковый жгутиковый; Vi - антиген - локализован в микрокапсуле, принадлежит к Н - антигенам. Источник: больной, бактерионоситель. Пути передачи: алиментарный, контактно-бытовой. После перенесенного заболевания формируется напряженный пожизненный иммунитет. Повторные заболевания редки. При недостаточно напряженном иммунитете могут возникать рецидивы и бактерионосительство (многие годы). Методы диагностики: микроскопический, серологический метод. Для лечения тифо - паратифозных заболеваний применяют антибиотики (чаще левомецитин). Специфическая профилактика состоит в вакцинации по эпидемиологическим показаниям химической вакциной.

Сальмонеллы – возбудители гастроэнтероколитов (сальмонеллезов).

Сальмонеллезы вызывают более 700 сероваров сальмонелл. Наиболее распространены из них следующие: *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. anatum*, *S. panama*, *S. infantis*.

По морфологическим и культуральным свойствам они не отличаются от возбудителей тифо - паратифозных заболеваний. Дифференцировку сальмонелл проводят по биохимическим свойствам и антигенной структуре. Источником являются домашние и дикие животные. Инфицирование происходит через продукты: мясо, яйца, молоко, а также при разделке туш, транспортировке продуктов, их кулинарной обработке. Пути передачи: алиментарный, контактно-бытовой. Иммунитет не напряженный. Возможны повторные заболевания, бактерионосительство. Заболевания, вызванные одним сероваром, не создают иммунитета к другим. Исследуемый материал:



испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, кровь, остатки продуктов. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический, биологический: пероральное заражение белых мышей. Специфическая профилактика не разработана. По эпидемическим показаниям назначают поливалентный бактериофаг.

Возбудители холеры относятся к семейству *Vibrionaceae*, роду *Vibrio*: *V.cholerae* - истинный холерный вибрион (выделен и изучен Р.Кохом в 1882г.) и *Vibrio eltor* (выделен на станции Эль-Тор ф. Готшлихом в 1906г.). Холерные вибрионы имеют форму тонких, изогнутых в виде запятой микробов. К питательным средам холерные вибрионы не требовательны.

Биохимически холерные вибрионы очень активны. Холерные вибрионы имеют два антигена: термолabileный жгутиковый – Н - аг, термостабильный соматический – О - аг. Образуют два вида токсинов: эндотоксин и экзотоксин.

Источником инфекции является больной человек и бактерионоситель. Механизм передачи - фекально-оральный. Важную роль в распространении инфекции играют вода, пищевые продукты, мухи. Холера (буквально желчечетечение) - острая кишечная инфекция. Исследуемым материалом при холере являются испражнения, рвотные массы, секционный материал, объекты внешней среды, сыворотка крови. Методы диагностики: бактериологический, экспресс - диагностика холеры (РИФ, реакция иммобилизации вибрионов, реакция фаголизиса), серологический. Создано несколько типов вакцин: корпускулярная убитая, живая пероральная, холерген - анатоксин. Для лечения используют тетрациклин.

### **Задание на занятие**

1. Приготовить мазки из чистой культуры кишечных палочек, окрасить по Граму и изучить морфологию. Повести иммерсионную микроскопию. Сделать рисунок.
2. Провести посев чистой культуры кишечных палочек на среду МПА.
3. Изучить характер роста эшерихий на средах Эндо и МПА.
4. Решить задачу.

*Задача №1.* При бактериологическом исследовании испражнений больного выделена культура бактерий, которая по морфологическим, культурным, биохимическим и антигенным свойствам может быть отнесена к шигеллам Зоне. Какие дополнительные исследование следует провести для подтверждения принадлежности культуры к этому виду бактерий? Какие

тесты следует использовать для расшифровки эпидемиологической обстановки?

*Задача №2.* В лабораторию поступил материал (испражнения) от больного с подозрением на дизентерию. Какие питательные среды следует подготовить для проведения бактериологического анализа?

*Задача №3.* При бактериологическом исследовании испражнений больного колиэнтеритом на среде Эндо обнаружен рост колоний красного цвета. Наличие какого микроба можно предположить? Какие тесты следует применить для определения выделенного микроба? Может ли данный вид микроба вызвать колиэнтерит и при каких условиях?

*Задача №4.* При бактериологическом исследовании промывных вод желудка больного с подозрением на острый гастроэнтерит выделена культура грамотрицательных палочек, характеризующаяся бесцветными колониями на среде Эндо, а также следующими особенностями ферментации: глюкоза +, лактоза+, манит+, сахароза -, индол -, H<sub>2</sub>S +. Наличие каких бактерий можно предположить? Какие свойства следует изучить для решения вопроса о принадлежности их к определенному виду?

*Задача №5.* У больного с симптомами острого гастроэнтерита при бактериоскопии исследуемого материала были обнаружены вибрионы.

1. Можно ли на основании этого исследования поставить диагноз «холера»?
2. Какая возможна диагностическая ошибка?
3. С помощью каких исследований можно установить этиологию заболевания?

*Задача №6.* При бактериологическом исследовании испражнений больных выделены 9 культур S.typhi. Какие методические приемы следует применить для выявления источника заражения? Что необходимо приготовить для проведения исследования?

*Задача №7.* В лабораторию поступила кровь больного с подозрением на брюшной тиф (12 сутки заболевания). Какой иммунологический тест (серологическая реакция) можно использовать для выявления заболевания? Что необходимо подготовить для его осуществления?

*Задача №8.* В лабораторию поступила кровь от больного с подозрением на холеру, но с нечеткими клиническими проявлениями. Какие серологические методы исследования могут быть использованы для диагностических целей? Какие методические приемы следует применить для решения поставленной задачи?

## Задание на самостоятельную работу

### 1. Заполните таблицу

#### Сравнительная характеристика важнейших возбудителей ОКИ

Биологические свойства	Шигеллы	Эшерихии
Морфология		
Окраска по Граму		
Подвижность при 37 °С при 22°С		
Культуральные свойства		
Рост на средах Эндо		
Плоскирева		
висмут-сульфит агаре		
селенитовом бульоне		
магниевой среде		
Биохимические свойства		
Ферментация		
глюкозы		
лактозы		
сахарозы		
мочевины		
Продукция H <sub>2</sub> S		
Характер роста на трёхсахарном агаре с мочевиной		
Антигенные свойства		
Перечислить основные антигены		
Главные факторы вирулентности		
Адгезины		
Способность к внутриклеточной инвазии		
Устойчивость к фагоцитозу		
Наличие эндотоксина		
Продукция экзотоксина		
Источник инфекции		
Лабораторная диагностика		
Материал для бак. исследования:		
кровь		
испражнения		

рвотные массы		
моча		
желчь		
Реакции, используемые для серодиагностики		
Препараты для специфической профилактики		

## 2. Дополните предложения.

Наиболее тяжёлую клиническую форму дизентерии вызывают \_\_\_\_\_

От других шигелл они отличаются \_\_\_\_\_

Наибольшая степень адаптации к пребыванию в окружающей среде присуща \_\_\_\_\_

Патологический процесс при бактериальной дизентерии локализуется \_\_\_\_\_

Основные клинические проявления дизентерии \_\_\_\_\_

## 3. Обведите в схеме Кауфмана - Уайта группоспецифические антигены.

Выпишите антигены для сальмонелл первых 5 серогрупп: А- \_\_\_\_\_; В- \_\_\_\_\_; С- \_\_\_\_\_; D- \_\_\_\_\_; E- \_\_\_\_\_.

В медицинской микробиологии используется классификация сальмонелл по антигенным свойствам (схема Кауфмана и Уайта).

### Сокращенная схема Кауфмана и Уайта

Серovar	Соматический (О) антиген	Жгутиковый (H) антиген	
		1-я фаза	2-я фаза
Группа А			
<i>S. paratyphi A</i>	1, 2,12	a	1,5
<i>S. kiel</i>	1,2,12	g, p	-
Группа В			
<i>S. paratyphi B</i>	1,4,(5),12	b	1,2
<i>S. abortusbovis</i>	1,4,12,27	b	e,n,x
<i>S. typhimurium</i>	1,4,(5),12	i	1,2
Группа С			
<i>S. paratyphi C</i>	6,7,vi	c	1,5
<i>S. newport</i>	6,8	e, h	1,2
Группа В			
<i>S. sendai</i>	1,9,12	a	1,5

<i>S. typhi</i>	9,12,vi	d	-
<i>S. enteritidis</i>	1,9,12	g,m	(1,7)
Группа E			
<i>S. oxford</i>	3,10	a	1,7
<i>S. zanzibar</i>	3,10	k	1,5

#### 4. Заполните таблицу.

	<i>S. typhi</i>	<i>S. paratyphi A</i>	<i>S. paratyphi B</i>
Источник инфекции			
Механизм передачи			
Вызываемые заболевания			

#### Вывод.

### ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №9

#### Тема: ВОЗБУДИТЕЛИ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША. ВОЗБУДИТЕЛИ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗОВ, ПАТОГЕННЫЕ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКОБАКТЕРИИ

**Цель:** формирование знаний о биологических свойствах коринебактерий, бордетелл, легионелл, микобактерий и освоение методов микробиологической диагностики вызываемых ими заболеваний.

#### Задачи:

1. Изучить биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша, легионеллёза, туберкулеза, лепры.
2. Изучить эпидемиологию и патогенез вызываемых ими заболеваний.
3. Освоить методы микробиологической диагностики вызываемых заболеваний
4. Изучить биопрепараты для специфической профилактики дифтерии, коклюша.

#### Основные вопросы темы занятия:

1. Таксономия и биологические свойства дифтерийных бактерий.
2. Эпидемиология и патогенез дифтерии. Иммуниетет.

3. Методы лабораторной диагностики, лечение и специфическая профилактика дифтерии.
4. Таксономия и биологические свойства бордетелл.
5. Эпидемиология и патогенез коклюша.
6. Лабораторная диагностика и специфическая профилактика коклюша.
7. Таксономия, морфологические и тинкториальные свойства легионелл.
8. Методы их выделения и культивирования, биохимия, антигены, токсины.
9. Эпидемиология легионеллез.
10. Методы лабораторной диагностики легионеллез. Лечение и профилактика.
11. Таксономия и биологические свойства туберкулезных палочек.
12. Эпидемиология и патогенез туберкулеза.
13. Методы микробиологической диагностики и специфическая профилактика туберкулеза.
14. Биологические особенности возбудителя лепры, методы его культивирования.
15. Эпидемиология, патогенез и клинические формы лепры.
16. Микробиологическая диагностика лепры. Лечение и профилактика.

Возбудитель дифтерии принадлежит к роду *Corynebacterium*. Вид *C. diphtheriae*. Прямые или слегка изогнутые палочки. По Граму окрашиваются положительно. Культивируют на кровяных и сывороточных средах. Группоспецифический антиген-полисахарид клеточной стенки. Типоспецифический - белковый поверхностный, К-антиген микрокапсулы. Экзотоксин. Источник инфекции больной или бактерионоситель. Основной путь передачи - воздушно-капельный. Поражаются надпочечники, миокард, нервная система. Материал для исследования: слизь и плёнки из носоглотки, отделяемое глаз, ушей, уретры. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический. РА, РНГА, ИФА, реакция Шика.

С 3-х месячного возраста троекратно с интервалом 1 -1,5 месяца вводят вакцину, содержащую дифтерийный анатоксин - АКДС, АДС. Ревакцинацию проводят через 2 года, затем в 6 и 11 лет. Вводят, не дожидаясь результатов микробиологического исследования, антитоксическую противодифтерийную сыворотку. Проводят антибиотикотерапию.

Возбудители коклюша – *Bordetella pertussis*. Небольшие палочки, почти кокки - коккобактерии. Грамотрицательные. Культивируются на картофельно - глицериновом агаре с добавлением крови (среда Борде-Жангу), на

кровяном агаре и на полусинтетическом казеиново-угольном агаре без добавления крови (КУА). Биохимически не активны. Обнаружено 14 аглютиногенов. Экзотоксин действует на рецепторы слизистой оболочки дыхательных путей. Всасываясь в кровь, оказывает действие на дыхательный центр, вызывая спазм мелких бронхов. Источник заражения – больной и бактерионоситель. Путь передачи воздушно-капельный. После перенесенного заболевания вырабатывается стойкий пожизненный иммунитет. Исследуемый материал: мокрота, отделяемое носоглотки, сыворотка крови. Для взятия материала применяют метод кашлевых пластинок (открытая чашка с питательной средой, которую держат перед ртом больного в момент кашля на расстоянии 6-8 см.). Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический.

Сем. Legionellaceae, Вид Legionella pneumophila. Палочки длиной 2-3 мкм. Грамотрицательные. Культивируют в желточном мешке куриных эмбрионов. Легионеллы – факультативные паразиты. К питательным средам очень требовательны. Культивируются в куриных эмбрионах. Антигены: группоспецифический - белковый, типоспецифический – липидо – белковый - углеводный комплекс. Термостабильный эндотоксин. Легионеллы широко распространены в водной среде. Это естественные обитатели водоемов. Путь заражения: аспирационный. Человек от человека заражается редко. Источник заражения не выявлен. Инкубационный период 5-10 дней. Исследуемый материал: кровь, мокрота, плевральная жидкость, ткань легкого, пробы воды. Методы диагностики: микроскопический, культуральный, серологический. Специфическая профилактика отсутствует. Для лечения применяют антибиотики: эритромицин, рифампицин.

#### Возбудители туберкулеза

Туберкулез вызывают микобактерии относящиеся к порядку *Actinomycetes*, семейство *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*, видам *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanus*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium murium*. Тонкие полиморфные палочки, спор и капсул не образуют. Гр+, но окрашиваются плохо, окрашиваются по методу Циля - Нильсена в красный цвет. К средам требовательны. Биохимически активны.

Образуют эндотоксин белковой природы. Источник заражения: больной, бактерионоситель. Пути заражения: аэрогенный, контактный, алиментарный. Различают легочные и внелегочные формы (кишечника, органов мочеполовой системы, костей, суставов и др.). Материал для диагностики: мокрота, испражнения, моча, пунктаты тканей и полостей,

трупный материал. Методы диагностики: микроскопический, бактериологический, серологический, биологический, аллергический: проба Манту. Специфическая профилактика: вакцина БЦЖ.

Возбудители лепры – *Mycobacterium leprae*. Микобактерии лепры морфологически похожи на микобактерии туберкулеза. Obligатные паразиты. Культивируются в организме девятиполосных броненосцев или материал вводят в мякоть подошвы лапки мыши (образование гранулемы). Источник заражения: больной человек. Пути заражения: воздушно-капельный, контактный. Формы лепры: лепроматозная, туберкулоидная, недифференцированные. Материал для диагностики: соскоб со слизистой оболочки носоглотки, глаз, ушей, уретры, ран, содержимое лепрозных узелков, мокрота, кровь во время лихорадки. Методы диагностики: микроскопический, серологический, биологический, аллергический. Для лечения лепры используют антибиотики и препараты сульфонового ряда. Усиление противолепрозного иммунитета и перевода отрицательной реакции на лепромин в положительную можно добиться вакцинацией БЦЖ.

### Задание на занятие

1. Изучить морфологию коринебактерий в фиксированных препаратах-мазках. Зарисовать рисунок-схему.
2. Решить задачу.

*Задача №1.* При бактериологическом исследовании отделяемого зева больного выделена культура, подозрительная на *C. diphtheria*. Какие методы могут быть использованы для определения ее токсигенности? Какой материал необходимо подготовить для этих целей?

*Задача №2.* В бактериологическую лабораторию поступил запрос на необходимость проведения диагностического исследования материала от больного с подозрением на коклюш. Какие методы исследования Вы рекомендуете? От чего зависит выбор метода исследования?

*Задача №3.* В лабораторию поступил материал (парные сыворотки) от больного с подозрением на коклюш. Какие серологические реакции Вы примите для постановки реакции? Что для их постановки следует подготовить?

*Задача №4.* В лабораторию поступил запрос на необходимость диагностического исследования материал от больного с подозрением на лепру. Какой материал исследования следует исследовать? Что необходимо подготовить для его реализации?



**Задача №5.** В баклабораторию поступил материал (моча) от больного с подозрением на туберкулез почки. Какие методы исследования Вы используете для выявления возбудителя? Что необходимо подготовить для их реализации? какие методические приемы следует использовать для дифференциации от сходных микроорганизмов?

**Задача №6.** В лабораторию поступил материал (мокрота) от больного с подозрением на туберкулез легкого. Какие методы исследования Вы используете для выявления возбудителя? Что необходимо подготовить для их реализации?

### Задания на самостоятельную работу

#### 1. Дополните предложения.

##### Коклюш и паракоклюш

Этиология- \_\_\_\_\_  
 Источник инфекции- \_\_\_\_\_  
 Механизм передачи- \_\_\_\_\_

##### Специфическая заблаговременная профилактика дифтерии

Дифтерийный анатоксин содержит \_\_\_\_\_, получен путем \_\_\_\_\_, входит в состав комплексных препаратов \_\_\_\_\_, применяется для создания \_\_\_\_\_

#### 2. Заполните таблицу.

##### Сравнительная характеристика возбудителей коклюша и дифтерии

	Коклюш	Дифтерия
Возбудитель		
Морфологические свойства		
Метод окраски		
Кислотоустойчивость		
Питательные среды		
Восприимчивость: болею чаще дети; болеют дети и взрослые		
Токсигенность		
Устойчивость во внешней среде		
Препараты для специфической профилактики		

### 3. Дополните предложения.

#### Туберкулёз

Исследуемый материал-\_\_\_\_\_

Серодиагностика туберкулёза в РНГА:

Название реакции \_\_\_\_\_

Исследуемый материал \_\_\_\_\_

Диагностический препарат \_\_\_\_\_

Аллергодиагностика:

Название реакции \_\_\_\_\_

Диагностический препарат \_\_\_\_\_

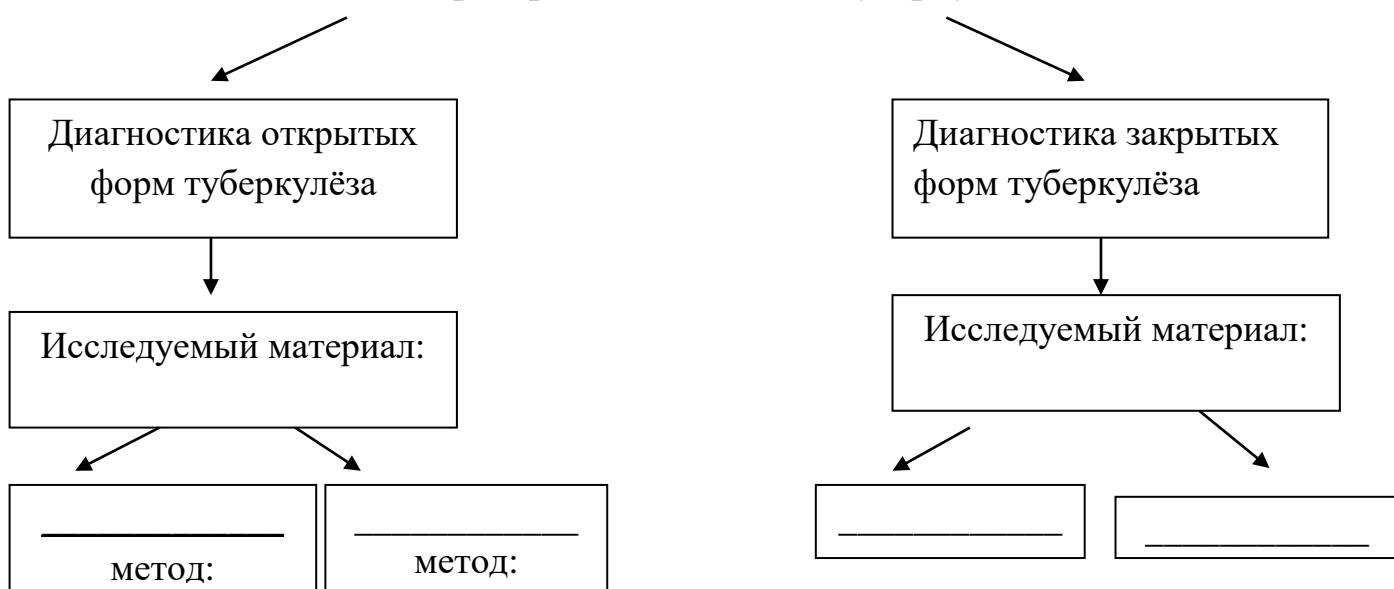
Положительный результат \_\_\_\_\_

Кроме диагностики туберкулёза проба \_\_\_\_\_ используется для \_\_\_\_\_

Специфическая заблаговременная профилактика- \_\_\_\_\_

### 2. Заполните схему.

#### Лабораторная диагностика туберкулёза



### Вывод.

#### Вопросы к итоговому занятию:

78. Предмет изучения медицинской микробиологии и ее значение для практического здравоохранения.

79. Система и номенклатура микроорганизмов.

80. Виды микробиологических лабораторий, правила работы в них. Методы микробиологии.

81. Техника приготовления мазков. Простые и сложные методы окраски. Механизм окрашивания мазков. Тинкториальные свойства микроорганизмов.
82. Световой микроскоп, его основные характеристики. Виды световой микроскопии (темнопольная, фазово-контрастная, люминисцентная). Электронная, атомно-силовая микроскопия. Иммерсионная микроскопия, принцип. Порядок проведения иммерсионной микроскопии. Электронная микроскопия.
83. Формы и размеры бактерий.
84. Химический состав и физические свойства бактериальных клеток.
85. Структура бактериальной клетки: ядерный аппарат, цитоплазма, рибосомы. Их строение, функции и методы выявления.
86. Оболочка бактерий: цитоплазматическая мембрана, клеточная стенка, капсула. Строение, функции и методы выявления.
87. Жгутики и реснички. Их строение, функции и методы выявления.
88. Споры. Их роль и особенности строения. Спорообразование. Методы выявления спор.
89. Понятие анаболизма и катаболизма.
90. Механизм питания бактерий.
91. Аутоотрофы и гетеротрофы, ауксотрофы и прототрофы.
92. Требования к искусственным питательным средам.
93. Классификация питательных сред.
94. Простые и сложные питательные среды.
95. Стерилизация и дезинфекция. Методы стерилизации.
96. Методика посева на искусственные питательные среды.
97. Фазы роста на искусственной питательной среде.
98. Выделение чистой культуры аэробов.
99. Механизм дыхания бактерий. Аэробы и анаэробы.
100. Методы культивирования анаэробных бактерий: питательные среды, аппаратура.
101. Выделение чистой культуры анаэробов.
102. Идентификация выделенной чистой культуры бактерий.
103. Основные группы ферментов бактерий.
104. Определение сахаролитических свойств бактерий.
105. Определение протеолитических ферментов.
106. Выделение пептолитических ферментов.
107. Ферменты агрессии: коагулаза, гиалуронидаза, нейроминидаза, ДНК – аза, гемолизин.
108. Классификация вирусов. Понятие вируса и вириона.

109. Морфология вирусов. Функции ДНК и РНК (- нить, + нить).
110. Химический состав нуклепротеида. Ферменты.
111. Методы культивирования вирусов.
112. Взаимодействие вируса с клеткой. Механизм транскрипции и репликации вирусного генома.
113. Механизм интеграции ДНК и РНК вируса в геном клетки.
114. Пути передачи вирусных инфекций.
115. Морфология фагов.
116. Механизм взаимодействия фагов с бактериальной клеткой.
117. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения.
118. Титр фага. Методы определения.
119. Принцип получения культуры фагов. Применение в медицине.
120. Организация генетического аппарата у бактерий. Генотип и фенотип.
121. Внехромосомные факторы: плазмиды у бактерий, их роль, транспозоны, Is – последовательности.
122. Формы изменчивости у микроорганизмов.
123. Мутации, виды мутаций у бактерий.
124. Генетические рекомбинации у бактерий (трансформация, трансдукция, конъюгация).
125. Понятие о модификациях.
126. Практическое использование генной инженерии.
127. Теоретическое и практическое значение учения о генетике.
128. Понятие об антибиотиках, их открытие.
129. Классификация антибиотиков: по происхождению, способу получения, действию на микроорганизм, антимикробному спектру.
130. Механизм действия антибиотиков на клетки микроорганизмов.
131. Принцип получения антибиотиков.
132. Единицы активности антибиотиков.
133. Механизм устойчивости бактерий к антибиотикам и способы борьбы с ними.
134. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
135. Побочные действия антибиотиков.
136. Экология микроорганизмов. Формы межвидовых взаимоотношений.
137. Санитарная микробиология, ее значение и методы.
138. Микрофлора воды, санитарно – микробиологические показатели: коли – титр, коли – индекс, микробное число, методы их определения.
139. Микробиоценозы почвы. Оценка санитарно – микробиологического состояния почвы: показатели, методы их определения.

140. Микрофлора воздуха, методы определения санитарно – микробиологического состояния.
141. Оценка санитарно – микробного состояния пищевых продуктов и объектов окружающей среды.
142. Нормальная микрофлора организма человека и ее значение. Гнотобиология.
143. Факторы, нарушающие нормальную микрофлору организма. Дисбиоз, пути его устранения.
144. Понятие инфекционного процесса и инфекционной болезни. Формы инфекционного процесса.
145. Экзогенные и эндогенные инфекции. Понятие “Входных ворот и инфицирующей дозы”. Пути передачи инфекции.
146. Очаговый и генерализованный инфекционный процесс. Пути распространения инфекций в организме. Понятие: бактериемия, вирусемия, токсинемия, сепсис, септикопиемия.
147. Моно - микстиинфекция, первичная и вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив.
148. Классификация инфекционного процесса: по источнику, течению, тяжести, по распространенности.
149. Периоды инфекционного заболевания.
150. Патогенность и вирулентность микроорганизмов, единицы измерения вирулентности.
151. Факторы вирулентности: адгезия, колонизация, пенетрация, инвазия. Их характеристики. Способность подавлять защитные силы макроорганизма.
152. Токсичность. Экзотоксины. Классификация по механизму действия.
153. Эндотоксины. Химическая природа, действие на макроорганизм.
154. Роль макроорганизма в возникновении инфекционного процесса.
155. Понятие иммунитета. Современное определение иммунитета.
156. Классификация иммунитета.
157. Понятие антигена, химическая природа.
158. Антигены бактерий.
159. Антигены вирусов.
160. Понятие антитела, структура антител.
161. Серологические реакции - понятие, применение.
162. Реакция агглютинации - определение, компоненты, применение.
163. Реакция преципитации - определение, компоненты, применение.
164. Реакция связывания комплемента - компоненты, фазы, применение.
165. Клиническая микробиология, её задачи.

166. Причины возникновения внутрибольничных инфекций.
167. Классификация в/б инфекций.
168. Основные возбудители госпитальных инфекций.
169. Источники и пути распространения госпитальных инфекций.
170. Характеристика условно - патогенных микроорганизмов, возбудители в/б инфекций.
171. Особенности в/б инфекций.
172. Микробиологическая диагностика и профилактика в/б инфекций.
173. Классификация клебсиелл и их роль в возникновении внутрибольничных инфекций.
174. Биологические свойства клебсиелл: морфология, тинкториальные свойства, культивирование, биохимические свойства, антигены, токсины, другие факторы патогенности.
175. Заболевания, вызываемые клебсиеллами. Эпидемиология и патогенез.
176. Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика клебсиллезов.
177. Классификация и биологические свойства протеев.
178. Протейные инфекции. Эпидемиология и патогенез.
179. Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика протейной инфекции.
180. Роль синегнойной палочки в возникновении госпитальных инфекций, классификация.
181. Биологические свойства синегнойных палочек.
182. Эпидемиология и патогенез заболеваний, вызываемых синегнойной палочкой.
183. Микробиологическая диагностика, лечение и спец. профилактика синегнойной инфекции.
184. Биологические свойства *Helicobacter pylori*.
185. Эпидемиология и патогенез хеликобактериоза.
186. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика заболеваний, вызванных *Helicobacter pylori*.
187. Общая характеристика гноеродной группы кокков.
188. Таксономия и биологические свойства стафилококков.
189. Эпидемиология и патогенез заболеваний, вызываемых стафилококками.
190. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика стафилококковых инфекций.
191. Таксономия и биологические свойства стрептококков.
192. Эпидемиология и патогенез стрептококковых инфекций, иммунитет.
193. Стрептококки - возбудители скарлатины и ревматизма.

194. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика стрептококковых инфекций.
195. Таксономия и биологические свойства менингококков.
196. Эпидемиология и патогенез менингококковых инфекций, иммунитет.
197. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика менингококковых инфекций.
198. Таксономия и биологические свойства гонококков.
199. Эпидемиология и патогенез гонококковых инфекций, иммунитет.
200. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика гонококковых инфекций.
201. Общая характеристика семейства энтеробактерий.
202. Таксономия и классификация эшерихий, дифференциальные признаки патогенных и условно-патогенных кишечных палочек.
203. Условно-патогенные эшерихии: их роль в жизнедеятельности организма человека, вызываемые заболевания.
204. Биологические свойства эшерихий.
205. Эпидемиология и патогенез колиэнтерита.
206. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика колиэнтерита.
207. Таксономия и биологические свойства шигелл.
208. Эпидемиология и патогенез дизентерии.
209. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика дизентерии.
210. Таксономия и биологические свойства сальмонелл-возбудителей брюшного тифа и паратифов.
211. Эпидемиология и патогенез тифо - паратифозных заболеваний, иммунитет.
212. Микробиологическая диагностика брюшного тифа по неделям заболевания.
213. Специфическая профилактика и лечение тифо - паратифозных заболеваний.
214. Таксономия и биологическая характеристика возбудителей сальмонеллезов.
215. Эпидемиология и патогенез сальмонеллезов. Иммунитет.
216. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика сальмонеллезов.
217. Классификация вибрионов.
218. Морфологические, тинкториальные, культуральные свойства возбудителей холеры.

219. Биохимические свойства и антигены холерных вибрионов.
220. Эпидемиология и патогенез холеры, иммунитет.
221. Бактериологический метод диагностики холеры.
222. Экспресс-метод и серологический метод диагностики холеры.
223. Специфическая профилактика холеры.
224. Таксономия и биологические свойства дифтерийных бактерий.
225. Эпидемиология и патогенез дифтерии. Иммунитет.
226. Методы лабораторной диагностики, лечение и специфическая профилактика дифтерии.
227. Таксономия и биологические свойства бордетелл.
228. Эпидемиология и патогенез коклюша.
229. Лабораторная диагностика и специфическая профилактика коклюша.
230. Таксономия, морфологические и тинкториальные свойства легионелл.
231. Методы их выделения и культивирования, биохимия, антигены, токсины.
232. Эпидемиология легионеллезов.
233. Методы лабораторной диагностики легионеллезов.
234. Таксономия и биологические свойства туберкулезных палочек.
235. Эпидемиология и патогенез туберкулеза
236. Методы микробиологической диагностики и специфическая профилактика туберкулеза.
237. Биологические особенности возбудителя лепры, методы его культивирования.
238. Эпидемиология, патогенез и клинические формы лепры.
239. Микробиологическая диагностика лепры. Лечение и профилактика.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Аленушкина А.В. Медицинская микробиология: Учебное пособие - Ростов н/Д.: Феникс, 2003. – 480с.
2. Асонов Н.Р. Микробиология: учебник. - М. : Колос : Колос-Пресс, 2002. – 351 с.
3. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: учебник. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – 736 с.
4. Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова и др. – М.: Медицина, 2005. – 367с.
5. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Перунова Н.Б., Усвятцов Б.Я., Черкасов С.В. Симбиоз и его роль в инфекции. Екатеринбург: УрО РАН, 2011. – 300с.
6. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология: учебник. - М.: Академия, 2006. – 461 с.
7. Клиническая лабораторная аналитика. Том 4. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Агат-Мед, 2003. - 816с.
8. Коробкин В.И., Передельский Л.В. Экология. – Ростов н/Д: Феникс, 2003. – 575с.
9. Лобзин, Ю.В. Дисбактериозы кишечника / Ю.В. Лобзин, В.Г. Макаров, Е.Р. Корвякова, С.М. Захаренко // СПб.: Фолиант, 2003. – 256 с.
10. Лысак В.В. Микробиология. – Минск: БГУ, 2007. – 429с.
11. Маянский А.Н. Патологическая микробиология / А.Н. Маянский. – Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2006. – 520с.
12. Прозоркина Н.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие / Н.В. Прозоркина. – Ростов н/Д: Феникс, 2006. – 384с.
13. Пыльцев М.А. Введение в молекулярную медицину / М.А. Пыльцев // М.: Медицина. – 2004. – 496 с.
14. Скала Л.З., Сидоренко С.В., Нехорошева А.Г. и др. Практические аспекты современной клинической микробиологии. - Тверь: Триада, 2004. - 312с.
15. Тец В.В. Микроорганизмы и антибиотики. Инфекции в оториноларингологии. \_СПб.: КЛЕ-Т, 2009. – С.28-38.
16. Фирсов Н.Н. Микробиология: словарь терминов. - М. : Дрофа, 2005. – 255 с.
17. Хаитов, Р.М. / Микробиоценоз кишечника и иммунитет / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Русский медицинский журнал. – 2003. № 11. С. 122-125.

18. Чернова Н.М., Былова А.М. Общая экология. – М.: Дрофа, 2004. – 416с.
19. Экология микроорганизмов: учебник / под ред. А.И. Нетрусова. - М. : Академия, 2004. – 266 с.
20. Микробиология, вирусология и иммунология: учебник. / под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 576 с.