

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра микробиологии, вирусологии

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
к практическим занятиям**

Дисциплина	Микробиология, вирусология
Специальность	30.05.02 Медицинская биофизика
Курс	3
Семестр	5

Уфа – 2023

Рецензенты:

- 1.
- 2.

Авторы: зав.каф. проф. Туйгунов М.М., проф. Булгаков А.К., доц. Давлетшина Г.К., доц.Хуснаризанова Р.Ф., доц.Рафикова Л.М., доц.Мусыргалина Ф.Ф., доц.Смагина Г.И.

Утверждены на заседании № 58 кафедры Микробиологии, вирусологии от « 30 » июня 2023 г.

Раздел 1:

1. Тема 1 и ее актуальность

Общая микробиология. Предмет и задачи микробиологии. Систематика микробов. Морфология микроорганизмов. Микроскопические методы исследования

Патогенные микроорганизмы являются возбудителями инфекционных заболеваний человека. Знакомство с миром микробов начинается у студентов с изучения морфологии основных групп микроорганизмов: бактерий, актиномицетов, грибов, микоплазм, спирохет, риккетсий, хламидий.

2. Учебные цели.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- обращаться с иммерсионной системой микроскопа;
 - готовить препараты из бактериальных культур;
 - готовить препараты для исследования микробов в живом состоянии;
 - окрашивать мазки простыми методами (водным фуксином и метиленовой синью) и сложными методами (Грама, Циль-Нильсена, Ожешко, Нейссера, Бури)
- Для формирования умения необходимо знать:
- современные методы микроскопического исследования;
 - правила работы в бактериологической лаборатории;
 - принципы современной классификации микробов;
 - строение бактериальной клетки;
 - теоретические основы окрашивания микроорганизмов;
 - морфологию актиномицетов, грибов, микоплазм, простейших, спирохет, риккетсий, хламидий и вирусов.

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки:

1. Как приготовить фиксированный препарат?

2. Метод Грама.

3. Метод Циль-Нильсена.

4. Метод Ожешко.

5. Метод Нейссера.

6. Метод Бурри.

7. Каковы механизмы взаимодействия красителей с цитоплазмой и отдельными структурами бактериальной клетки?

8. Каковы основные формы бактерий?

9. В чем различия в структуре грамположительных и грамотрицательных бактерий?

10. Структуры бактериальной клетки: нуклеотид, цитоплазма, рибосомы, мезосомы, включения, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, капсула, ворсинки, жгутики.

11. Споры, их характеристики.

12. Особенности строения актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий и микоплазм.

4. Вид занятия - практическое занятие.

5. Продолжительность занятия - 3 часа.

6. Оснащение: таблицы, микропрепараты, наборы красок, биологические микроскопы.

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

Задания для самоконтроля:

1. При окраске методом Грама препарата, приготовленного из культуры стафилококка, обесцвечивание 96% спиртом проводилось в течение 3-х минут. Какая ошибка была допущена в технике окраски по Граму? Как будет выглядеть препарат микроскопически?
2. В бактериологическую лабораторию поступил патологический материал от больных с подозрением на дифтерию и туберкулез. Какие методы специфической окраски вы можете применить для выявления возбудителей и почему?
3. Определить наличие спор и зерен волютина исследуемой микробной культуры, используя соответствующие методы окраски.
4. Перед началом микроскопии студент установил иммерсионный объектив, наблюдая в окуляр, начал подбирать освещение. Какая была допущена ошибка? Как ее устранить? Каким зеркалом следует пользоваться при работе с иммерсионным объективом при естественном освещении?
5. Каковы отличия нуклеотида бактерий от ядра клеток-эукариотов?
6. Какова основная функция бактериальных рибосом?
7. В каких процессах участвуют мезосомы?
8. Каковы особенности клеточной стенки у грамположительных и грамотрицательных бактерий?
9. Каковы основные функции цитоплазматической мембраны?
10. Какова роль пилей?

Эталоны ответов.

1. Обесцвечивание спиртом проводится в течение 30 секунд до отхождения фиолетовых струек краски. Препарат микроскопически будет грамотрицательный.
2. При подозрении на дифтерию используют метод окраски Нейссера для обнаружения зерен волютина. При подозрении на туберкулез применяют метод Циль-Нильсена, основанный на кислотоустойчивости возбудителя.
3. Наличие спор в исследуемой микробной культуре определяют методом Циль-Нильсена или Ожешко. Наличие зерен волютина определяют методом Нейссера.
4. Перед началом микроскопии устанавливают правильное освещение поля зрения микроскопа с помощью вогнутого зеркала. Затем на предметный столик помещают исследуемый препарат и рассматривают его с объективом (x10), затем под иммерсионным объективом, предварительно нанеся каплю иммерсионного масла.
5. Нуклеоид бактерий не имеет мембраны, не содержит набора хромосом, не делится митозом.
6. Та же, что у эукариотов – обеспечивают синтез функциональных и структурных белков в клетке.
7. В делении бактериальной клетки, спорообразовании, синтезе клеточной стенки, энергетическом метаболизме.
8. У грамположительных бактерий пептидогликан многослоен, с ним связаны тейхоевые кислоты. У грамотрицательных бактерий пептидогликан однослоен, имеется наружная мембрана, в состав которой входят фосфолипиды, липопротеиды, белки-порины, обеспечивающие диффузию различных химических соединений.
9. В цитоплазматической мембране локализуются пермеазы и окислительные ферменты. Цитоплазматическая мембрана регулирует транспорт метаболитов, участвует в транспорте ДНК, в выделении ферментов и токсинов.
10. Известно несколько типов пилей, отличающихся по своим функциям. Пили 1-го типа («ворсинки общего типа») имеются на поверхности бактериальной клетки в большом количестве (100-200), они обеспечивают адгезию бактерий к клеткам человека и животных, имеют большое значение в механизме патогенного действия. Пили 2-го типа («половые ворсинки» или «конъюгативные пили») имеются у бактерий в небольшом количестве (1-4) и участвуют в передаче генетического материала от одной клетки к другой при конъюгации бактерий.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия:

- Окраска мазков простыми методами.
- Окраска эмульсии, состоящей из смеси кишечной палочки и стафилококка, по Граму.
- Окраска дрожжей методом Нейссера.
- Окраска спор антракоида по Ожешко.
- Окраска микобактерий туберкулеза по Циль-Нильсену.

7.3. Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.

7.4. Самостоятельная работа студентов под руководством преподавателя в лаборатории.

№ п/п	Последовательность действий	Методические указания к деятельности и цель	Ориентировочные признаки
1	Освоение микроскопии с иммерсионной системой	Изучение морфологических и тинкториальных свойств отдельных микроорганизмов	
2	Освоение техники приготовления мазков из бактериальных культур		
3	<p>Освоение окраски простыми и сложными методами:</p> <ul style="list-style-type: none"> - окраска водным фуксином Пфейффера - окраска синькой Леффлера - окраска универсальным методом Грама: <ol style="list-style-type: none"> 1. На фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную генцианвиолетом и наносят каплю воды на 2 минуты. 2. Бумагу сбрасывают и, не промывая водой, наливают раствор Люголя на 1 минуту. 3. Препарат обесцвечивают 3-5 каплями спирта в течении 30 секунд до прекращения отхождения фиолетовых струек краски. 4. Промывают водой. 5. Докрашивают водным 	<p>Время окраски 1-2 минуты</p> <p>Время окраски 3-5 минут</p> <p>Генцианвиолет – основная краска.</p> <p>Раствор Люголя – протрава: усиливает действие основной краски у грамположительных бактерий.</p> <p>Спирт – обесцвечивающий фактор.</p> <p>Водный фуксин – дополнительная краска.</p>	<p>Все виды бактерий одинаково интенсивно окрашиваются в красный цвет.</p> <p>Отмечается различная степень интенсивности окраски бактерий в синий цвет.</p> <p>Грамположительные бактерии (кокки) – сине-фиолетового цвета, Грамотрицательные (палочковидной формы) – розового цвета.</p>

<p>фуксином Пфейффера в течении 1-2 минут.</p> <p>6. Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют под иммерсией.</p> <p>- окраска методом Нейссера:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. На фиксированный мазок на 1 мин. наливают синьку Нейссера. 2. Промывают раствором Люголя. 3. Не промывая водой, окрашивают везувином в течение 5 мин. 4. Промывают водой, высушивают и смотрят под иммерсией. <p>- окраска методом Циль-Нильсена:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. На фиксированный мазок накладывают белую фильтровальную бумагу и наливают карболовый фуксин Циля. Препарат 2-3 раза подогревают в пламени до появления паров. 2. Препарат промывают водой, бумагу сбрасывают. 3. Препарат обесцвечивают в 5% растворе серной кислоты. 4. Промывают водой. 5. Докрашивают синькой Леффлера 3-5 минут. 6. Промывают водой, высушивают, смотрят под иммерсией <p>- Обобщение темы</p>	<p>Синька Нейссера – основная краска.</p> <p>Раствор Люголя – протрава. Везувин – дополнительная краска</p> <p>Карболовый фуксин – основная краска. Прогревание – протрава</p> <p>Серная кислота – обесцвечивающий фактор.</p> <p>Синька Леффлера – дополнительная краска</p>	<p>Тела бактерий светло-коричневого цвета, а зерна волютин – темно-синего, почти черного цвета.</p> <p>Кислотоустойчивые бактерии и споры – рубиново-красного цвета, а остальная микрофлора – синего цвета</p> <p>Подведение итогов</p>
---	---	---

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Материалы для контроля уровня освоения темы.

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1. Спиралевидную форму имеют:

- a) микрококки
- b) сарцины
- c) бациллы
- d) стафилококки

Ответ: c)

2. Функции капсулы бактерий:

- a) защита от действия света
- b) участвует в метаболизме
- c) усиливает болезнетворность

- d) сохраняет форму клеток
- e) адаптация

Ответ: c)

3. Способны образовывать споры:

- a) стафилококки
- b) сарцины
- c) бациллы
- d) спириллы
- e) хламидии

Ответ: c)

1. Грамположительные бактерии:

- a) бациллы
- b) менингококки
- c) кишечные палочки
- d) вибрионы
- e) спирохеты

Ответ: a)

2. Для окраски спор используется:

- a) простой метод окраски
- b) окраску по Циль-Нильсену
- c) метод Романовского-Гимза
- d) метод Бури
- e) метод Нейссера

Ответ: b)

Тесты 2 типа. Вопросы с подбором.

А. На соответствие. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, выберите один соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован один или несколько раз.

1.) Подобрать термины, эквивалентные следующим понятиям:

- 1. Спорообразующие бактерии, у которых диаметр спор равен диаметру палочек. А. Сарцины
- 2. Кокки, делящиеся в одной плоскости и расположенные цепочкой. В. Клостридии
- 3. Спорообразующие бактерии, у которых диаметр спор больше диаметра палочек. С. Бациллы
- 4. Кокки, делящиеся в нескольких плоскостях и расположенные гроздевидными скоплениями. Д. Стрептококки
- 5. Кокки, делящиеся в двух взаимоперпендикулярных плоскостях и расположенные пакетами по 8 и 16. Е. Стафилококки
- 6. Кокки ланцетовидной формы, делящиеся в одной плоскости и расположенные парами.

Ответы: 1- С, 2- Д, 3- В, 4- Е, 5- А, 6- Д

2.) Назвать функции данных структур бактериальной клетки:

- 1. Споры А. Выполняют функцию движения
- 2. Капсулы В. Функция адгезии
- 3. Зерна волютина С. Подавляют фагоцитоз
- 4. Жгутики Д. Трофическая функция
- 5. Пили Е. Повышают устойчивость во
- 6. Включения гликогена, крахмала внешней среде

Ответы: 1- Е, 2- С, 3- Д, 4- А, 5- В, 6- Д

3.) Назвать возбудителей следующих инфекций:

- | | | |
|----|---------------------|--|
| 1. | Бледная трепонема | A. Возбудитель эпидемического сыпного тифа |
| 2. | Риккетсия Провачека | B. Возбудитель Ку-лихорадки |
| 3. | Коксиелла Вернета | C. Возбудитель сифилиса |
| 4. | Риккетсия Музера | D. Возбудитель эндемического сыпного тифа |
| 5. | Боррелия Обермейера | E. Возбудитель возвратного тифа |
| 6. | Боррелия Дуттони | |

Ответы: 1-С, 2- А, 3- В, 4- Д, 5- Е, 6- Е

В. На сопоставление. Для каждого вопроса выберите соответствующий ответ:

- A. – если вопрос связан только с А
 B. – если вопрос связан только с В
 C. – если вопрос связан только с В, С, Д
 Д. – если вопрос не связан ни с А, ни с В, ни с С

1.) В каких целях используются следующие методы окраски:

- | | | |
|----|--------------------------|--|
| 1. | Метод Грама | A. Для кислотоустойчивых бактерий и спор |
| 2. | Метод Циль-Нильсена | B. Универсальный метод |
| 3. | Метод Нейссера | C. Для обнаружения капсул |
| 4. | Негативный метод Бурри | D. Для обнаружения зерен волютина |
| 5. | Метод Романовского-Гимза | E. Для спирохет |

Ответы: 1- В, 2- А, 3- Д, 4- С, Е, 5- Е

2.) С какими микроорганизмами сходны данные микроорганизмы:

- | | | |
|----|--------------|--|
| 1. | Спирохеты | A. Имеют сходство с простейшими |
| 2. | Актиномицеты | B. Имеют сходство с вирусами |
| 3. | Риккетсии | C. Имеют сходство с грибами |
| 4. | Хламидии | D. Имеют сходство с «типичными бактериями» |
| 5. | Микоплазмы | |

Ответы: 1- А, Д, 2- С, Д, 3- В, Д, 4- В, Д, 5- В, Д

Тесты 3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными. Выберите ответ:

- A – если правильная комбинация 1, 2, 3.
 B - если правильная комбинация 1 и 3.
 C - если правильная комбинация 2 и 4.
 Д - если все ответы правильны.

1.) Ядро бактерий:

- | | | |
|----|--------------------------------|----------|
| 1. | Является хромосомой | |
| 2. | Содержит РНК | |
| 3. | Содержит ДНК | |
| 4. | Не содержит нуклеиновых кислот | |
| 5. | Заключено в мембрану | Ответ: А |

2.) Клеточная стенка бактерий:

- | | | |
|----|---------------------------------------|----------|
| 1. | Выполняет механическую функцию | |
| 2. | Участвует в инфекционном процессе | |
| 3. | Придает устойчивость во внешней среде | |
| 4. | Участвует в движении | |
| 5. | Трофическая функция | Ответ: А |

3.) Риккетсии:

1. Размножаются поперечным делением
 2. Размножаются почкованием
 3. Являются облигатными внутриклеточными паразитами
 4. Грамположительны
 5. Образуют споры
- Ответ: В

4.) Грамотрицательные бактерии:

1. Вибрионы
 2. Спириллы
 3. Гонококки
 4. Сарцины
 5. Микрококки
- Ответ: А

5.) Окраска по Циль-Нильсену определяется:

1. Высоким содержанием липидов
 2. Капсулой
 3. Кислотоустойчивостью
 4. Внутриклеточными включениями
 5. Особенности пептидогликана
- Ответ: В

Ситуационные задачи:

1. Определить форму клеток неизвестной бактериальной культуры, используя простой метод окраски.
2. Определить родовую принадлежность плесневых грибов на основании особенностей строения мицелия, плодоносящих гиф и спор.
3. Определить наличие спор и зерен волютина исследуемой микробной культуры, используя соответствующие методы окраски.
4. Перед началом микроскопии студент установил иммерсионный объектив, наблюдая в окуляр, начал подбирать освещение. Какая была допущена ошибка? Как ее устранить? Каким зеркалом следует пользоваться при работе с иммерсионным объективом при естественном освещении?
5. В бактериологической лаборатории произошел несчастный случай. Один из студентов выронил чашку Петри с культурой микроорганизмов. Чашка разбилась на полу лаборатории. Какие меры по технике безопасности необходимо применять, чтобы предотвратить распространение инфекции?

1. Тема 2 и ее актуальность:

«Морфология бактерий. Ультраструктура и химический состав бактериальной клетки. Сложные методы окрашивания»

Патогенные микроорганизмы являются возбудителями инфекционных заболеваний человека. Знакомство с миром микробов начинается у студентов с изучения морфологии основных групп микроорганизмов: бактерий, актиномицетов, грибов, микоплазм, спирохет, риккетсий, хламидий.

2. Учебные цели:

В результате освоения темы студент должен уметь:

- Обращаться с иммерсионной системой микроскопа;
- Готовить препараты из бактериальных культур;
- Готовить препараты для исследования микробов в живом состоянии;

- Готовит мазки простыми методами (водным фуксином и метиленовой синью) и сложными методами (Грама, Циль – Нильсена, Ожешко, Нейссера, Бури)
Для формирования умения необходимо знать:
 - Современные методы микроскопического исследования;
 - Правила работы в бактериологической лаборатории;
 - Принципы современной классификации микробов;
 - Строение бактериальной клетки;
 - Теоретические основы окрашивания микроорганизмов;
- Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Вопросы для самоподготовки:

- Ультраструктура и химический состав бактериальной клетки.
- Функциональные значения и химический состав нуклеотида, цитоплазмы, рибосом, лизосом, включений, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, капсулы, ворсинок, жгутиков.
- Методика приготовления фиксированных препаратов – мазков.
- Простые методы окраски.
- Методы определения подвижности бактерий: приготовление препаратов «раздавленная капля», «висячая капля» и другие.

4. Вид занятия: Практическое занятие.

5. Продолжительность занятия: 3 часа.

6. Оснащение:

Таблицы, микропрепараты, наборы красок, биологические микроскопы.

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

Задания для самоконтроля:

- При окраске методом Грама препарата, приготовленного из культур стафилококка, обесцвечивание 96% спиртом проводилось в течении 3-х минут.
Какая ошибка была допущена в технике окраски по Граму? Как будет выглядеть препарат микроскопически?
- В бактериологическую лабораторию поступил патологический материал от больных с подозрением на дифтерию и туберкулез. Какие методы специфической окраски вы можете применить для выявления возбудителей и почему?
- Определить наличие спор и зерен волютина исследуемой микробной культуры, используя соответствующие методы окраски.
- Перед началом микроскопии студент установил иммерсионный объектив, наблюдая в окуляр, начал подбирать освещение. Какая была допущена ошибка? Как ее устранить? Каким зеркалом следует пользоваться при работе с иммерсионным объективом при естественном освещении?
- Каковы отличия нуклеотида бактерий от ядра клеток – эукариотов?
- Какова основная функция бактериальных рибосом?

7. В каких процессах участвуют мезосомы?
8. Каковы особенности клеточной стенки у грамположительных и грамотрицательных бактерий?
9. Каковы основные функции цитоплазматической мембраны?
10. Какова роль бактериальных пилей?

Эталоны ответов.

1. Обесцвечивание спиртом проводится в течение 30 секунд до отхождения фиолетовых струек краски. Препарат микроскопически будет грамотрицательный.
 2. При подозрении на дифтерию используют метод окраски Нейссера для обнаружения зерен волютина. При подозрении на туберкулез применяют метод Циль – Нильсена, основанный на кислостойкости возбудителя.
 3. Наличие спор в исследуемой микробной культуре определяют методом Циль – Нильсена или Ожешко. Наличие зерен волютина определяют методом Нейссера.
 4. Перед началом микроскопии устанавливают правильное освещение поля зрения микроскопа с помощью вогнутого зеркала. Затем на предметный столик помещают исследуемый препарат и рассматривают его с объективом (x10), затем под иммерсионным объективом, предварительно нанеся каплю иммерсионного масла.
 5. Нуклеотид бактерий не имеет мембраны, не содержит набора хромосом, не делится митозом.
 6. Та же, что у эукариотов – обеспечивают синтез функциональных и структурных белков в клетке.
 7. В делении бактериальной клетки, спорообразовании, синтезе клеточной стенки, энергетическом метаболизме.
 8. У грамположительных бактерий пептидогликан многослоен, с ним связаны тейхоевые кислоты. У грамотрицательных бактерий пептидогликан однослоен, имеется наружная мембрана, в состав которой входят фосфолипиды, липопротеиды, белки – порины, обеспечивающие диффузию различных химических соединений.
 9. Цитоплазматической мембране локализируются пермеазы и окислительные ферменты. Цитоплазматическая мембрана регулирует транспорт метаболитов, участвует в транспорте ДНК, в выделении ферментов и токсинов.
 10. Известно несколько типов пилей, отличающихся по своим функциям. Пили 1-го типа («ворсинки общего типа») имеются на поверхности бактериальной клетки в большом количестве (100-200), они обеспечивают адгезию бактерий к клеткам человека и животных, имеют большое значение в механизме патогенного действия. Пили 2-го типа («половые ворсинки» или «конъюгативные пили») имеются у бактерий в небольшом количестве (1-4) и участвуют в передаче генетического материала от одной клетки к другой при конъюгации бактерий.
- 7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия:
- Окраска мазков простыми методами.

- Окраска эмульсии, состоящей из смеси кишечной палочки и стафилококка, по Граму.
- Окраска дрожжей методом Нейссера.
- Окраска спор антракоида по Ожешко.
- Окраска микобактерий туберкулеза по Циль – Нильсену.

7.3 Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.

7.4 Самостоятельная работа студентов в аудитории под руководством преподавателя.

№ п/п	Последовательность действий	Методические указания к деятельности и цели	Ориентировочные признаки
1.	Освоение микроскопии с иммерсионной системой	Изучение морфологических тинкториальных свойств отдельных микроорганизмов	
2.	Освоение техники приготовления мазков из бактериальных культур		
3.	Освоение окраски простыми и сложными методами: окраска водным фуксинов Пфейффера окраска синькой Леффлера окраска универсальным методом Грама: 1. На фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную генцианвиолетом и наносят каплю воды на 2 минуты. 2. Бумагу сбрасывают и, не промывая водой, наливают раствор Люголя на 1 минуту. 3. Препарат обесцвечивают 3-5 каплями спирта в течении 30 секунд до прекращения отхождения фиолетовых струек краски. 4. Промывают водой	Время окраски 1-2 минуты Время окраски 3-5 минут Генцианвиолет – основная краска Раствор Люголя – протрава: усиливает действие основной краски у грамположительных бактерий Спирт – обесцвечивающий фактор	Все виды бактерий одинаково интенсивно окрашиваются в красный цвет Отмечается различная степень интенсивности окраски бактерий в синий цвет Все бактерии: грамположительные (кокки) и грамотрицательные (палочковидной формы) – сине-фиолетового цвета Появляется бурый оттенок Грамотрицательные бактерии обесцвечиваются граммотрицательные

<p>5.Докрашивают водным фуксином Пфейффера в течении 1-2 минут.</p> <p>6.Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют под иммерсией</p> <p>окраска методом Нейссера:</p> <p>1.На фиксированный мазок на 1 минуту наливают синьку Нейссера</p> <p>2.Промывают раствором Люголя.</p> <p>3.Не промывая водой, окрашивают везувином в течении 5 минут.</p> <p>4.Промывают водой, высушивают и смотрят под иммерсией.</p> <p>окраска методом Циль-Нильсена:</p> <p>1.На фиксированный мазок накладывают белую фильтровальную бумагу и наливают карболовый фуксин Циля. Препарат 2-3 раза подогревают в пламени до появления паров.</p> <p>2.Препарат промывают водой, бумагу сбрасывают.</p> <p>3.Препарат обесцвечивают в 5% растворе серной кислоты.</p> <p>4.Промывают водой.</p> <p>5.Докрашивают синькой Леффлера 3-5 минут.</p> <p>6.Промывают водой, высушивают, смотрят под иммерсией.</p>	<p>Водный фуксин – дополнительная краска</p> <p>Синька Нейссера – основная краска</p> <p>Раствор Люголя - протрава</p> <p>Везувин – дополнительная краска</p> <p>Карболовый фуксин – основная краска. Подогревая – протрава.</p> <p>Серная кислота – обесцвечивающий фактор</p> <p>Синька Леффлера – дополнительная краска</p>	<p>(палочковидной формы) – розового цвета</p> <p>Розовое окрашивание</p> <p>Тела бактерий светло – коричневого цвета, а зерна волютина – темно-синего, почти черного цвета</p> <p>Кислотоустойчивые бактерии и споры – рубиново – красного цвета, а остальная микрофлора – синего цвета</p>
--	--	---

Обобщение темы. Подведение итогов.

7.5 Контроль освоения темы занятия.

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1.Спиралевидную форму имеют:

- a) микрококки
- b) сарцины
- c) бациллы
- d) стафилококки

Ответ: c)

2.Функции капсулы бактерий:

- a) защита от действия света
- b) участвует в метаболизме
- c) усиливает болезнетворность
- d) сохраняет форму клеток
- e) адаптация

Ответ: c)

3.Способны образовывать споры:

- a) стафилококки
- b) сарцины
- c) бациллы
- d) спириллы
- e) хламидии

Ответ: c)

4.Грамположительные бактерии:

- a) бациллы
- b) менингококки
- c) кишечные палочки
- d) вибрионы
- e) спирохеты

Ответ: a)

5.Для окраски спор используется:

- a) простой метод окраски
- b) окраску по Циль - Нильсену
- c) метод Романовского – Гимза
- d) метод Бури
- e) метод Нейссера

Ответ: b)

Тесты 2 типа. Вопросы с подбором.

А.На соответствие. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите один соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот ответ может быть использован один или несколько раз.

Подобрать термины, эквивалентные следующим понятиям:

1.Спорообразующие бактерии, у которых диаметр спор равен диаметру палочек.

А.Сарцины

2.Кокки, делящиеся в одной плоскости и расположенные цепочкой.

В.Клостридии

3.Спорообразующие бактерии, у которых диаметр спор больше диаметра палочек

4.Кокки, делящиеся в нескольких плоскостях

и расположенные гроздевидными скоплениями.

С.Бациллы

5.Кокки, делящиеся в нескольких взаимно перпендикулярных плоскостях и расположенные пакетами по 8 и 16.

Д.Стрептококки

6.Кокки ланцетовидной формы, делящиеся в одной плоскости и расположенные парами.

Е.Стафилококки

Ответы: 1-С, 2-Д, 3-В, 4-Е, 5-А, 6-Д

1.) Назвать функции данных структур бактериальной клетки:

1.споры

А) выполняют функцию движения

2.капсула

В) функция адгезии

3.зерна волютина

С) подавляют фагоцитоз

4.жгутики

Д) трофическая функция

5.пили

Е) повышают устойчивость во

6.включения гликогена

внешней среде

Ответы: 1-Е, 2-С, 3-Д, 4-А, 5-В, 6-Д

3) Назвать возбудителей следующих инфекций:

1.Бледная трепонема

А.Возбудитель эпидемического сыпного тифа

2.Риккетсия Провачека

3.Коксиела Вернета

В.Возбудитель Ку-лихорадки

4.Риккетсии Музера

С.Возбудитель сифилиса

5.Бореллия Обермейера

Д.Возбудитель эндемического

6.Бореллия Дуттони

сыпного тифа
Е.Возбудитель возвратного тифа

Ответы: 1-С, 2-А, 3-В, 4-Д, 5-Е, 6-Е

В. На сопоставление. Для каждого вопроса выбери соответствующий ответ:

А. – если вопрос связан только с А

В. – если вопрос связан только с В

С. – если вопрос связан только с В, С, D

Д. – если вопрос связан только с А, ни с В, ни с С

1)В каких целях используют следующие методы окраски:

1.Метод Грама

А. Для кислостойчивых бактерий и спор

2.Метод Циль – Нельсена

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| 3.Метод Нейссера | В. Универсальный метод |
| 4.Негативный метод Бури | С. Для обнаружения капсул |
| 5.Метод Романовского – Гимза | Д. Для обнаружения зерен волютина |
| | Е. Для спирохет |

Ответы: 1-В, 2-А, 3-Д, 4-С, 5-Е

2) С какими микроорганизмами сходны данные микроорганизмы:

- | | |
|----------------|--|
| 1.Спирохеты | А. Имеют сходство с простейшими |
| 2.Актиномицеты | В. Имеют сходство с вирусами |
| 3.Риккетсии | С. Имеют сходство с грибами |
| 4.Хламидии | Д. Имеют сходство с «типичными бактериями» |
| 5.Микоплазмы | |

Ответы: 1-А,Д 2-С 3-В,Д 4-В,Д 5-В,Д

Тесты 3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными. Выберите ответ:

- А – если правильная комбинация 1,2,3
 В – если правильная комбинация 1 и 3
 С – если правильная комбинация 2 и 4
 D - если все ответы правильны

1. Ядро бактерий:

- | | |
|----|--------------------------------|
| 1. | Является хромосомой |
| 2. | Содержит РНК |
| 3. | Содержит ДНК |
| 4. | Не содержит нуклеиновых кислот |
| 5. | Заключено в мембрану |

Ответ: А

2. Клеточная стенка бактерий:

Выполняет механическую функцию

- | | |
|----|---------------------------------------|
| 1. | Участвует в инфекционном процессе |
| 2. | Придает устойчивость во внешней среде |
| 3. | Участвует в движении |
| 4. | Трофическая функция |

Ответ: А

3. Риккетсии:

- | | |
|----|--|
| 1. | Размножаются поперечным делением |
| 2. | Размножаются почкованием |
| 3. | Являются облигатными внутриклеточными паразитами |
| 4. | Грамположительные |
| 5. | Образуют споры |

Ответ: В

4. Грамотрицательные бактерии:

1. Вибрионы
2. Спириллы
3. Гонококки
4. Сарцины
5. Микрококки

Ответы: А

5. Окраска по Циль – Нилсену определяется:

1. Высоким содержанием липидов
2. Капсулой
3. Кислоустойчивостью
4. Внутриклеточным включениями
5. Особенности пептидогликанами

Ответ: В

Ситуационные задачи:

1. Определить форму клеток неизвестной бактериальной культуры, используя простой метод окраски.
2. Определить родовую принадлежность плесневых грибов на основании особенностей строения мицелия, плодоносящих гиф и спор.
3. Определить наличие спор и зерен волютина исследуемой микробной культуры, используя соответствующие методы окраски.
4. . Перед началом микроскопии студент установил иммерсионный объектив, наблюдая в окуляр, начал подбирать освещение. Какая была допущена ошибка? Как ее устранить? Каким зеркалом следует пользоваться при работе с иммерсионным объективом при естественном освещении?
5. В бактериологической лаборатории произошел несчастный случай. Один из студентов выронил чашку Петри с культурой микроорганизмов. Чашка разбилась на полу в лаборатории. Какие меры по технике безопасности необходимо применять, чтобы предотвратить распространение инфекции?

1. Тема 3 и ее актуальность:

«Морфология бактерий (продолжение). Структура актиномицет, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм. Морфология грибов, простейших. Контрольная работа по темам № 1-3»

Патогенные микроорганизмы являются возбудителями инфекционных заболеваний человека. Студентов ознакомит с морфологией основных групп микроорганизмов: бактерий, актиномицетов, грибов, микоплазм, спирохет, риккетсий, хламидий.

2. Учебные цели

В результате проведения занятий по данной теме студент должен уметь

- обращаться с иммерсионной системой микроскопа
 - готовить препараты из бактериальных культур
 - готовить препараты для исследования микробов в живом состоянии
 - окрашивать мазки простыми методами (водным фуксином и метиленовой синью) и сложными методами (Грама, Циль – Нильсена, Ожешко, Нейссера, Бури)
- Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материалы для самоподготовки к освоению данной темы

Вопросы для самоподготовки:

- а) химический состав бактерий: различия в структуре Грам(+) и Грам(-) бактерий.
- б) протопласты и сферопласты, L – формы бактерий.
- в) методика окраски по Граму
- г) капсулы, их химический состав, окраска по Бурри – Гинсу
- д) споры, их характеристика, назначение у бактерий;
- е) окраска по методу Циля – Нильсена и Ожешко, их назначения
- ж) включения у бактерий, окраска по Нейссеру

4. Вид занятия: практическое занятие

5. Продолжительность занятия: 3 час

6. Оснащение: Таблицы, микропрепараты, иммерсионные микроскопы, наборы красок

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

Учебно – исследовательская работа студентов

1. При окраске методом Грама препарата, приготовленного из культур стафилококка, обесцвечивание спиртом проводилось в течении 3-х минут. Какая ошибка была допущена в технике окраски по Граму? Как будет выглядеть препарат микроскопически?
2. В бактериологическую лабораторию поступил патологический материал от больных с подозрением на дифтерию и туберкулез. Какие методы специфической окраски вы можете применить для выявления возбудителей и почему?
3. Определить наличие спор и зерен волютина исследуемой микробной культуры, используя соответствующие методы окраски.
4. Перед началом микроскопии студент установил иммерсионный объектив, наблюдая в окуляр, начал подбирать освещение. Какая была допущена ошибка? Как ее устранить? Каким зеркалом следует пользоваться при работе с иммерсионным объективом при естественном освещении?
5. В бактериологической лаборатории произошел несчастный случай. Один из студентов выронил чашку Петри с культурой микроорганизмов. Чашка разбилась на полу лаборатории. Какие меры по технике безопасности необходимо применять, чтобы предотвратить распространение инфекции?

Контрольная работа по темам № 1-3

1. Учебные цели

Проверка усвоения знаний о морфологии микроорганизмов и умений работать с микропрепаратами и микроскопом, проверка сформированности у обучающихся компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

2. Вопросы для контроля усвоения знаний

1. Медицинская микробиология. Предмет, методы, задачи.
2. Начальный период развития микробиологии (А. Левенгук и др.).
3. Работы Л.Пастера и Р.Коха. Их значение в становлении и развитии микробиологии.
4. Основные принципы систематики бактерий. Таксонометрические категории. Критерии виде.
5. Морфология бактерий. Основные формы, постоянные и непостоянные структуры бактериальной клетки.
6. Основные характеристики светового микроскопа (разрешающая способность, общее увеличение). Принцип иммерсионного микроскопа.
7. Особенности фазово-контрастной и темнопольной микроскопии.
8. Основные характеристики электронного микроскопа (разрешающая способность, общее увеличение). Особенности люминесцентной микроскопии.
9. Этапы приготовления мазка для иммерсионной микроскопии.
10. Определение подвижности бактерий методами «раздавленной» и «висячей» капли.
11. Различия в структуре грамположительных и грамотрицательных бактерий. Протопласты, сферопласты и L-формы бактерий.
12. Окраска по методу Грама. Назначение, основная краска, протрава, обесцвечивающий фактор, дополнительная краска, механизм.
13. Окраска по Циль- Нильсону. Назначение, основная краска, протрава, обесцвечивающий фактор, дополнительная краска, механизм.
14. Окраска по методу Ожешко. Назначение. Основные этапы. Механизм.
15. Особенности строения актиномицетов. Общие признаки с бактериями и грибами. Патогенные представители.
16. Особенности строения спирохет, их классификация. Общие признаки с бактериями и простейшими. Патогенные представители.
17. Особенности строения риккетсий. Общие признаки с бактериями и вирусами, патогенные представители.
18. Особенности строения хламидий. Общие признаки с бактериями и вирусами, патогенные представители.
19. Морфология и структура микоплазм, патогенные представители.
20. Морфология и структура простейших, их классификация. Патогенные представители.

1. Тема 4 и ее актуальность:

«Физиология микроорганизмов. Питание бактерий. Бактериологический метод. Выделение чистой культуры»

Раздел «Физиология бактерий» занимает одно из центральных мест в микробиологии, поскольку он изучает такие вопросы, как питание, дыхание, конструктивный и энергетический метаболизм, ферменты, пигменты, образование тепла и света, рост и размножение бактерий. Изучение метаболизма и биохимических свойств бактерий является одним из основных дифференциально-диагностических методов для точного распознавания возбудителя болезни. Знание физиологических свойств бактерий облегчит изучение частного раздела микробиологии и клинических дисциплин (инфекционные болезни, эпидемиологию) на старших курсах.

2. Учебные цели: Выделение чистой культуры бактерий и ее идентификация.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- выделить чистую культуру аэробных и факультативно-анаэробных бактерий;
- удалить кислород для культивирования анаэробов;
- провести идентификацию бактерий по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам;
- стерильно засеять микробы на питательные среды, пользуясь петлей и шпателем.

Для формирования умения студент должен знать:

- питание, ферменты, дыхание, рост и размножение бактерий.
- питательные среды;
- бактериологический метод.

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материалы для самоподготовки к освоению данной темы:

Вопросы для самоподготовки:

- 1) питание бактерий, механизм питания, классификация бактерий по типу питания;
- 2) ферменты бактерий, классификация;
- 3) пигменты бактерий, классификация;
- 4) практическое применение ферментов и пигментов в микробиологии и в медицине;
- 5) питательные среды (основные, дифференциально-диагностические, элективные и др.);
- 6) МПА, МПБ, состав, приготовление их;
- 7) рост и размножение бактерий, фазы размножения;
- 8) дыхание бактерий, классификация бактерий по типу дыхания;
- 9) методы культивирования бактерий;
- 10) выделение чистых культур аэробных и факультативно-анаэробных бактерий;
- 11) методы культивирования анаэробных бактерий;
- 12) выделение чистых культур анаэробов;
- 13) особенности культивирования риккетсий, хламидий и микоплазм.

4. Вид занятия: практическое занятие.

5. Продолжительность занятия: 3 часа.

6. Оснащение: слайды, микроскопы, питательные среды: МПБ, МПА, скош. МПА, кровяной агар, желчный бульон, 1 % щелочная пептонная вода, среды Ру, Эндо, Левина, Плоскирева, Гисса, Ресселя, Клиглера, агар-агар; методы культивирования анаэробов: сахарный агар столбиком, среда Кит-Тароцци, Вильсон-Блера, методы Виньял-Вейона, Перитца и Фортнера; термостат, анаэростат, таблицы; смесь бактерий в пробирках, набор красок по Граму.

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

- задания для самоконтроля:

1. Заполнить бланки «Направление на бактериологическое исследование».
2. Составить схему биохимической идентификации бактерий.

Ситуационные задачи

1. При росте чистой культуры в коротком пестром ряде отмечается изменение цвета среды всех пробирок за исключением среды с сахарозой и пузырьки газа в поплавках.

Назовите основные компоненты среды Гисса.

Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

2. При посеве на среду Плоскирева испражнения больного с подозрением на кишечную инфекцию получены множество бесцветных колоний и единичные розовые колонии.

Назовите основные компоненты среды Плоскирева.

Какие бактерии на этой среде дают такие колонии и почему?

3. При посеве крови в среду Рапопорта отмечается покраснение среды.

Назовите основные компоненты среды Рапопорта.

Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

Эталоны ответов.

1. Основные компоненты среды Гисса: 1% пептонная вода, 0,5% определенного углевода, индикатор Андрее, поплавки для улавливания газа.

Такие изменения дает *E.coli*, т.к. она ферментирует маннит и всех углеводов короткого пестрого ряда за исключением сахарозы с образованием кислоты (покраснение среды) и газа.

2. Основные компоненты среды Плоскирева: МПА, лактоза, индикатор нейтральный красный, соли желчных кислот, бриллиантовый зеленый, йод.

E.coli растет на этой среде скудно, в виде колоний розового цвета, т.к. ее жизнедеятельность подавляется бактерицидными веществами среды и расщепляет лактозу.

Сальмонеллы и шигеллы являются лактозонегативными, поэтому дают бесцветные колонии.

3. Основные компоненты среды Рапопорта: 10% желчный бульон, глюкоза, индикатор Андрее.

При размножении брюшнотифозных сальмонелл отмечается покраснение среды, т.к. происходит расщепление глюкозы до кислоты.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

Аэробный тип дыхания микробов характеризуется тем, что окисление органических соединений происходит при участии кислорода воздуха, а анаэробный тип дыхания заключается в получении энергии при окислительно-восстановительных реакциях, при которых акцептором водорода являются неорганические соединения – нитрат и сульфат.

Факультативные анаэробы могут существовать в аэробных и анаэробных условиях (нитратное дыхание).

Облигатные анаэробы могут существовать лишь в строго анаэробных условиях (сульфатное дыхание).

Микроаэрофилы существуют при пониженном содержании кислорода (5-10%).

7.3. Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.

- получение изолированных колоний;
- посев штрихами на скош.МПА;
- посев на среду Клиглера штрихами и уколом в глубину агара.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

- изучение основных, элективных, дифференциально-диагностических питательных сред;

- изучение методов удаления кислорода для культивирования анаэробов;
- выделение чистой культуры бактерий по Дригальскому:

1 этап - получение изолированных колоний;

2 этап- выделение чистой культуры;

3 этап - идентификация выделенной чистой культуры;

4 этап - заключение.

Формы и методы контроля исходного и конечного уровня знаний – умений и навыков студентов.

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1. Определите действие ферментов гидролаз:

- А) Катализирует окислительно-восстановительные реакции.
- В) Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
- С) Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов путем присоединения молекулы воды.
- Д) Способствует реакциям биосинтеза.
- Е) Осуществляет перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле.

Ответ: С

2. Для шигелл оптимальной консервирующей средой является:

- А) Глицериновый консервант.
- В) Фосфатный буфер.
- С) Среды Кери-Блер.

Ответ: А

3. Элективной средой для *Candida albicans* является:

- А) Среды Эндо.
- В) Среды Плоскирева.
- С) Среды Сабуро.
- Д) Среды Левина.
- Е) Среды Клауберга.

Ответ: С

4. Образование колоний темно-красного цвета на среде Эндо свидетельствует о способности данного микроорганизма:

- А) Ферментировать глюкозу.
- В) Ферментировать лактозу.
- С) Продуцировать H_2S .
- Д) Продуцировать индол.

Ответ: В

Тесты 2 типа. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован один или несколько раз

1. Назовите источники энергии для бактерий:

- 1. Аутотрофы
- 2. Гетеротрофы

- А. Кислород
- В. Аминокислоты
- С. Спирты
- Д. Углеводы
- Е. Солнечная энергия

Ответ: 1 - В, С, Д; 2 - А

2. Назовите дифференцирующие факторы сред:

- 1. Среды Эндо
- 2. Среды Плоскирева
- 3. Среды Ресселя

- А. Лактоза
- В. Глюкоза
- С. Лактоза + глюкоза

Ответ: 1- А, 2 - А, 3 - С.

3. Назовите питательные среды, используемые для культивирования данных бактерий:

- 1. *S. aureus*.
- 2. *S. typhi*.
- 3. *E. coli*.

- 4. *St. pyogenes*.
- 5. *Ps. aeruginosa*.

- А. Ацетамидная среда
- В. Сахарный бульон
- С. Желчный бульон
- Д. Желчно-солевой агар
- Е. Среды Эндо

Ответ: 1 -Д, 2 - С, 3 - Е, 4 - В, 5 - А

4. Определите действие ферментов в соответствии с их названием

- | | |
|--------------------|---|
| 1. Гидролазы. | А. Катализируют окислительно-восстановительные реакции |
| 2. Оксидоредуктазы | В. Отщепляют химические группы не гидролитическим путем |
| 3. Трансферазы | С. Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов, путем присоединения молекулы воды. |
| 4. Лиазы. | Д. Участвуют в углеводном обмене |
| 5. Изомеразы | Е. Способствуют биосинтетическим реакциям клетки |
| 6. Лигаза | Г. Осуществляют перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле |

Ответ: 1 - С, 2 - А, 3 - Г, 4 - В, 5 - Е, 6 - Д

5. Определите, какие функции выполняют различные химические компоненты клетки:

- | | |
|-------------------------|--|
| 1. Вода. | А. Входят в состав различных клеточных структур
Необходимы для регулирования осмотического давления, РН, окислительно-восстановительного потенциала, для активации ферментов |
| 2. Белки | В. Необходимые компоненты цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. У некоторых бактерий выполняют роль запасных питательных веществ. |
| 3. Нуклеиновые кислоты | С. Выполняют пластическую функцию, входя в структуру клетки. Играют основную роль в обеспечении энергией процессов клеточного метаболизма, могут являться запасным питательным материалом. |
| 4. Углеводы. | Д. Обеспечивают наследственные свойства и считывание генетической информации. |
| 5. Липиды. | Е. Большая их часть выполняет ферментативные функции. |
| 6. Минеральные вещества | Г. Является средой, где происходят биохимические процессы. |

Ответы: 1-Г; 2-Е; 3-Д; 4-С; 5-В; 6-А

Тесты 3 типа. Подберите верные ответы на вопросы:

А если верно 1,2,3	В если верно только 1,3	С если верно только 2,4	Д если верно только 4	Е если верно все
--------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-----------------------------	------------------------

А если верно 1,2,3	В если верно только 1,3	С если верно только 2,4	Д если верно только 4	Е если верно все
--------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-----------------------------	---------------------

1. Назовите механизмы питания бактерий:

- 1) Облегченная диффузия.
- 2) Активный перенос.
- 3) Транслокация радикалов.
- 4) Пассивная диффузия.

Ответ: Е

2. Для выделения микроорганизмов предпочтительно использовать питательные среды:
- 1) Простые.
 - 2) Элективные.
 - 3) Сложные среды.
 - 4) Обогащения.
 - 5) Консерванты.

Ответ: С.

3. Определите действие ферментов изомераз:

- 1) Участвует в углеводном обмене.
- 2) Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
- 3) Катализирует окислительно-восстановительные реакции.
- 4) Способствует реакциям биосинтеза.
- 5) Осуществляет перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле.

Ответ: Д.

4. При культивировании анаэробов по Фортнеру анаэробия достигается за счет:

- 1) Горения свечи.
- 2) Вытеснения воздуха инертным газом.
- 3) Окисления кислорода.
- 4) Роста аэробов.

Ответ: Д.

5. Аутотрофы в качестве источника энергии используют:

- 1) Аминокислоты.
- 2) Спирты.
- 3) Углеводы.
- 4) Солнечную энергию.

Ответ: Д.

Приложение № 1.

Первичная идентификация.

Для этой цели применяют комбинированные среды - Клигlera или Олькеницкого, на которых наряду с получением чистой культуры для дальнейшего изучения, выявляет одновременно несколько ее признаков: способность образовывать сероводород и отношение к глюкозе, лактозе, а так же сахару и мочевины - на среде Олькеницкого. Посев материала из колонии на комбинированную среду проводят бактериологической петлей, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при 37°C в теч. 15-20 часов, а при целенаправленном исследовании в течение того же времени, но при 20-25 °С.

Ферментацию лактозы в среде Клигlera судят по появлению желтой окраски в скошенной части агара, а о ферментации глюкозы - по такому же окрашиванию в столбике. Газообразование устанавливают по появлению пузырьков, разрывом агара и его отслоению от стенок пробирки. Образование сероводорода устанавливают по почернению среды, обычно в средней части столбика. Образование сероводорода может происходить лишь в кислой среде, которая создается за счет ферментации глюкозы, присущей всем энтеробактериям. Кроме того, при просмотре среды в проходящем свете в столбике обычно видны на общем черном фоне участки пожелтевшего агара.

По совокупности биохимических тестов, выявленных на комбинированной среде, делают предположительное заключение о возможной родовой принадлежности культуры. Далее выбирают дифференциально-диагностические тесты, необходимые для установления рода энтеробактерий (см. табл.), а затем определяют вид бактерий.

1. Тема 5 и ее актуальность:

«Типы биологического окисления субстрата бактериями. Дыхание бактерий»

Физиология микроорганизмов, типы биологического окисления субстрата микроорганизмами занимает одно из центральных мест в микробиологии, поскольку он изучает такие вопросы, как питание, дыхание, конструктивный и энергетический метаболизм, ферменты, пигменты, образование тепла и света, рост и размножение бактерий. Изучение метаболизма и биохимических свойств бактерий является одним из основных дифференциально-диагностических методов для точного распознавания возбудителя болезни. Знание физиологических свойств бактерий облегчит изучение частного раздела микробиологии и клинических дисциплин (инфекционные болезни, эпидемиология) на старших курсах.

2. Учебные цели: Выделение чистой культуры бактерий и ее идентификация.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- провести идентификацию бактерий по биохимическим свойствам;
- стерильно засеять микробы на питательные среды, пользуясь петлей и шпателем.

Для формирования умения студент должен знать:

- питание, ферменты, дыхание, рост и размножение бактерий
- питательные среды
- бактериологический метод.

3. Материалы для самоподготовки к освоению данной темы:

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Ферменты микроорганизмов и их классификация
- 2) Пигменты микроорганизмов
- 3) Практическое использование биохимической активности микроорганизмов в микробиологической промышленности и медицинской микробиологии
- 4) Идентификация бактерий по ферментативной активности

Формируемые компетенции: УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

4. Вид занятия: практическое занятие

5. Продолжительность занятия: 3 часа

6. Оснащение: микроскопы, питательные среды: культура бактерий на скошенном. МПА, короткий пестрый ряд, пробирка с МПБ и полоской индикаторной бумаги на сероводород, термостат, таблицы, набор красок по Граму.

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

Ситуационные задачи.

1. При росте чистой культуры в коротком пестром ряде отмечается изменение цвета среды всех пробирок за исключением среды сахарозы и лактозы.

Назовите основные компоненты среды Гисса.

Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

2. При посеве на среду Плоскирева испражнения больного с подозрением на кишечную инфекцию получены множество бесцветных колоний и единичные розовые колонии.

- Назовите основные компоненты среды Плоскирева.

- Какие бактерии на этой среде дают такие колонии и почему?

3. При посеве в среду Рапопорта отмечается покраснение среды.

- Назовите основные компоненты среды Рапопорта.

- Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

Эталоны ответов.

1. Основные компоненты среды Гисса: 1% пептонная вода, 0,5% определенного углевода, индикатор Андредда, попловки для улавливания газа.

Такие изменения дают *S.typhi*, т.к. она ферментирует маннит и всех углеводов короткого пестрого ряда за исключением сахарозы и лактозы с образованием кислоты.

2. Компоненты среды Плоскирева: МПА, лактоза, индикатор нейтральный красный, соли желчных кислот, бриллиантовая зелень, йод.

E.coli растет на этой среде скудно, в виде колонии розового цвета, т.к. ее жизнедеятельность подавляется бактерицидными веществами среды и расщепляет лактозу. Сальмонеллы и шигеллы являются лактоза-негативными, поэтому дают бесцветные колонии.

3. Компоненты среда Рапопорта: 10% желчный бульон, глюкоза, индикатор Андредда.

При размножении сальмонелл отмечается покраснением среды, т.к. происходит расщепление глюкозы до кислоты.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов необходимых для освоения темы занятия.

7.3. Демонстрация преподавателям методики практических приемов по данной теме:

- уметь выявить изменения короткого пестрого ряда

- определить образования сероводорода

- определить каталазную активность

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

- выделение чистой культуры *E.coli* из исследуемого материала (смесь ее со стафилококками)

3 Этап. Цель: идентификация чистой культуры бактерий

Ход работы:

- 1) Макроскопическое определение роста культуры на скош. МПА
- 2) Микроскопическое исследование культуры (приготовление мазка и окраска по Граму) – проверка на чистоту
- 3) Идентификация по биохимической активности
 - изучение роста бактерий на коротком пёстром ряде
 - определение каталазной активности
 - определение образования сероводорода
- 4) **Этап. Учет результатов идентификации и оформление окончательного заключения**

Формы и методы контроля исходного и конечного уровня знаний - умений и навыков студентов. Тесты 3 типов.

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1. Определите действие ферментов гидролаз:

- А) Катализирует окислительно-восстановительные реакции.
- Б) Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
- В) Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов путем присоединения молекулы воды.
- Д) Способствуют реакциям биосинтеза.
- Е) Осуществляют перенос отдельных атомов от молекул к молекулам.

Ответ: С

2. Для шигелл оптимальной консервирующей средой является:

- А) Глицериновый консервант.
- Б) Фосфатный буфер.
- В) Среда Кери - Блэр.

Ответ: А

3. Элективной средой для *Candida albicans* является:

- А) Среда Эндо.
- Б) Среда Плоскирева.
- В) Среда Сабуро.
- Д) Среда Левина.
- Е) Среда Клауберга.

Ответ: С

4. Образование колоний темно - красного цвета на среде Эндо свидетельствует о способности данного микроорганизма:

- А) Ферментировать глюкозу.
- Б) Ферментировать лактозу.
- В) Продуцировать H_2S .
- Д) Продуцировать индол.

Ответ: В

Тесты 2 типа.

Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован один или несколько раз.

1. Назовите источники энергии для бактерий:

1. Аутотрофы

А. Кислород

2. Гетеротрофы

- В. Аминокислоты
- С. Спирты
- Д. Углеводы
- Е. Солнечная энергия

Ответы: 1-В, С, Д; 2 - А.

2. Назовите дифференцирующие факторы сред:

- | | |
|---------------------|----------------------|
| 1. Среда Эндо | А. Лактоза |
| 2. Среда Плоскирева | В. Глюкоза |
| 3. Среда Ресселя | С. Лактоза + глюкоза |

Ответы: 1 - А; 2 - А; 3 - С.

3. Назовите питательные среды, используемые для культивирования данных бактерий:

- | | |
|--------------------|----------------------------|
| 1. S. aureus. | А. Ацетамидная среда. |
| 2. S. thyphi | В. Сахарный бульон. |
| 3. E coli | С. Желчный бульон. |
| 4. St. pyogenes. | Д. Желточно - солевой агар |
| 5. Ps. aeruginosa. | Е. Среда Эндо. |

Ответы: 1 - В, Д; 2 - С,Е; 3 - Е; 4 - В; 5 - А,Е.

4. Определите соответствие действия фермента его названию:

1. Гидролазы.
2. Оксидоредуктазы.
3. Трансферразы.
4. Лиазы.
5. Изомеразы

А. Катализируют окислительно- восстановительные реакции.

В. Отщепляют химические группы не гидролитическим путем

С. Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов путем присоединения молекулы воды

Д. Участвуют в углеводном обмене.

Е. Способствуют биосинтетическим реакциям клетки

Тесты 3 типа. Подберите верные ответы на вопросы:

А	В	С	Д	Е
если верно 1,2,3	если верно только 1,3	если верно только 2,4	если верно только 4	если верно все

1. Для выделения микроорганизмов предпочтительно использовать питательные среды:

1. Простые
2. Элективные
3. Сложные среды
4. Обогащения
5. Консерванты

Ответ: С

2. Определите действие ферментов изомераз:

2. Участвует в углеводном обмене.
3. Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
4. Катализирует окислительно - восстановительные реакции.
5. Способствует реакциям биосинтеза.
6. Осуществляет перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле.

Ответ: Д

2. При культивировании анаэробов по Фортнеру анаэробиз достигается за счет:

7. Горения свечи.
8. Вытеснения воздуха инертным газом.
9. Окисления кислорода.
10. Роста аэробов.

Ответ: Д

2. Аутотрофи в качестве источника энергии используют:

11. Аминокислоты.
12. Спирты.
13. Углеводы.
14. Солнечную энергию

Ответ: Д

Первичная идентификация.

Для этой цели применяют комбинированные среды - Клиглера или Олькеницкого, на которых наряду с получением чистой культуры для дальнейшего изучения, выявляет одновременно несколько ее признаков: способность образовывать сероводород и отношение к глюкозе, лактозе, а также сахару и мочеvine - на среде Олькеницкого. Посев материала из колонии на комбинированную среду проводят бактериологической петлей вначале по скошенной части штрихом и заканчивают уколом в толще агарового столбика, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при 37 °С в теч. 15-20 часов, а при целенаправленном исследовании в течение того же времени, но при 20-25 °С.

Ферментацию лактозы в среде Клиглера судят по появлению желтой окраски в скошенной части агара, а о ферментации глюкозы - по такому же окрашиванию в столбике. Газообразование устанавливают по появлению пузырьков, разрывом агара и его отслоению от стенок пробирки. Образование сероводорода устанавливают по почернению среды, обычно в средней части столбика. Образование сероводорода может происходить лишь в кислой среде, которая создается за счет ферментации глюкозы, присущей всем энтеробактериям. Кроме того, при просмотре среды в проходящем свете в столбике обычно видны на общем черном фоне участки пожелтевшего агара, свидетельствующие о ферментации углеводов.

По совокупности биохимических тестов, выявленных на комбинированной среде, делает предположительное заключение о возможной родовой принадлежности культуры. Далее выбирают дифференциально-диагностические тесты, необходимые для установления рода энтеробактерий (см. табл.), а затем определяют вид бактерий

1. Тема 6 и ее актуальность:

«Биохимия бактерий, их идентификация»

Раздел «Физиология бактерий» занимает одно из центральных мест в микробиологии, поскольку он изучает такие вопросы, как питание, дыхание, конструктивный и энергетический метаболизм, ферменты, пигменты, образование тепла и света, рост и размножение бактерий. Изучение метаболизма и биохимических свойств бактерий является одним из основных дифференциально-диагностических методов для точного распознавания возбудителя болезни. Знание физиологических свойств бактерий облегчит изучение частного раздела микробиологии и клинических дисциплин (инфекционные болезни, эпидемиологию) на старших курсах.

2. Учебные цели: Выделение чистой культуры бактерий и ее идентификация.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- выделить чистую культуру аэробных и факультативно-анаэробных бактерий;
 - удалить кислород для культивирования анаэробов;
 - провести идентификацию бактерий по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам;
 - стерильно засеять микробы на питательные среды, пользуясь петлей и шпателем.
- Для формирования умения студент должен знать:
- питание, ферменты, дыхание, рост и размножение бактерий.
 - питательные среды;
 - бактериологический метод.

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материалы для самоподготовки к освоению данной темы:

Вопросы для самоподготовки:

- 1) питание бактерий, механизм питания, классификация бактерий по типу питания;
- 2) ферменты бактерий, классификация;
- 3) пигменты бактерий, классификация;
- 4) практическое применение ферментов и пигментов в микробиологии и в медицине;
- 5) питательные среды (основные, дифференциально-диагностические, элективные и др.);
- 6) МПА, МПБ, состав, приготовление их;
- 7) рост и размножение бактерий, фазы размножения;
- 8) дыхание бактерий, классификация бактерий по типу дыхания;
- 9) методы культивирования бактерий;
- 10) выделение чистых культур аэробных и факультативно-анаэробных бактерий;
- 11) методы культивирования анаэробных бактерий;
- 12) выделение чистых культур анаэробов;
- 13) особенности культивирования риккетсий, хламидий и микоплазм.

4. Вид занятия: практическое занятие.

5. Продолжительность занятия: 3 час

6. Оснащение: слайды, микроскопы, питательные среды: МПБ, МПА, скош. МПА, кровяной агар, желчный бульон, 1 % щелочная пептонная вода, среды Ру, Эндо, Левина, Плоскирева, Гисса, Ресселя, Клиглера, агар-агар; методы культивирования анаэробов: сахарный агар столбиком, среда Кит-Тароцци, Вильсон-Блера, методы Виньял-Вейона,

Перитца и Фортнера; термостат, анаэроустат, таблицы; смесь бактерий в пробирках, набор красок по Граму.

7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

- задания для самоконтроля:

1. Заполнить бланки «Направление на бактериологическое исследование».

2. Составить схему биохимической идентификации бактерий.

Типовые задачи.

1. При росте чистой культуры в коротком пестром ряде отмечается изменение цвета среды всех пробирок за исключением среды с сахарозой и пузырьки газа в поплавках.

Назовите основные компоненты среды Гисса.

Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

2. При посеве на среду Плоскирева испражнения больного с подозрением на кишечную инфекцию получены множество бесцветных колоний и единичные розовые колонии.

Назовите основные компоненты среды Плоскирева.

Какие бактерии на этой среде дают такие колонии и почему?

3. При посеве крови в среду Рапопорта отмечается покраснение среды.

Назовите основные компоненты среды Рапопорта.

Какие бактерии на этой среде дают такие изменения и почему?

Эталоны ответов.

1. Основные компоненты среды Гисса: 1% пептонная вода, 0,5% определенного углевода, индикатор Андрее, поплавки для улавливания газа.

Такие изменения дает *E.coli*, т.к. она ферментирует маннит и всех углеводов короткого пестрого ряда за исключением сахарозы с образованием кислоты (покраснение среды) и газа.

2. Основные компоненты среды Плоскирева: МПА, лактоза, индикатор нейтральный красный, соли желчных кислот, бриллиантовый зеленый, йод.

E.coli растет на этой среде скудно, в виде колоний розового цвета, т.к. ее жизнедеятельность подавляется бактерицидными веществами среды и расщепляет лактозу.

Сальмонеллы и шигеллы являются лактозонегативными, поэтому дают бесцветные колонии.

3. Основные компоненты среды Рапопорта: 10% желчный бульон, глюкоза, индикатор Андрее.

При размножении брюшнотифозных сальмонелл отмечается покраснение среды, т.к. происходит расщепление глюкозы до кислоты.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

Аэробный тип дыхания микробов характеризуется тем, что окисление органических соединений происходит при участии кислорода воздуха, а анаэробный тип дыхания заключается в получении энергии при окислительно-восстановительных реакциях, при которых акцептором водорода являются неорганические соединения – нитрат и сульфат.

Факультативные анаэробы могут существовать в аэробных и анаэробных условиях (нитратное дыхание).

Облигатные анаэробы могут существовать лишь в строго анаэробных условиях (сульфатное дыхание).

Микроаэрофилы существуют при пониженном содержании кислорода (5-10%).

7.3. Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.

- получение изолированных колоний;
- посев штрихами на скош.МПА;
- посев на среду Клиглера штрихами и уколом в глубину агара.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

- изучение основных, элективных, дифференциально-диагностических питательных сред;
- изучение методов удаления кислорода для культивирования анаэробов;
- выделение чистой культуры бактерий по Дригальскому:
 - 1 этап - получение изолированных колоний;
 - 2 этап- выделение чистой культуры;
 - 3 этап - идентификация выделенной чистой культуры;
 - 4 этап - заключение.

Формы и методы контроля исходного и конечного уровня знаний – умений и навыков студентов. Тесты 3 типов.

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1. Определите действие ферментов гидролаз:

- А) Катализирует окислительно-восстановительные реакции.
- В) Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
- С) Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов путем присоединения молекулы воды.
- Д) Способствует реакциям биосинтеза.
- Е) Осуществляет перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле.

Ответ: С.

2. Для шигелл оптимальной консервирующей средой является:

- А) Глицериновый консервант.
- В) Фосфатный буфер.
- С) Среды Кери-Блер.

Ответ: А.

3. Элективной средой для *Candida albicans* является:

- А) Среды Эндо.
- В) Среды Плоскирева.
- С) Среды Сабуро.
- Д) Среды Левина.
- Е) Среды Клауберга.

Ответ: С.

4. Образование колоний темно-красного цвета на среде Эндо свидетельствует о способности данного микроорганизма:

- А) Ферментировать глюкозу.

- В) Ферментировать лактозу.
- С) Продуцировать H_2S .
- Д) Продуцировать индол.

Ответ: В.

Тесты 2 типа. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован один или несколько раз.

1. Назовите источники энергии для бактерий:

- | | |
|----------------|----------------------|
| 1. Аутотрофы | А. Кислород |
| 2. Гетеротрофы | В. Аминокислоты |
| | С. Спирты |
| | Д. Углеводы |
| | Е. Солнечная энергия |

2. Назовите дифференцирующие факторы сре

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1. Среда Эндо. | А. Лактоза. |
| 2. Среда Плоскирева. | В. Глюкоза. |
| 3. Среда Ресселя. | С. Лактоза + глюкоза. |
- Ответы: 1 - А; 2 - А; 3 - А, В, С.

3. Назовите питательные среды, используемые для культивирования данных бактерий:

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| 1. <i>S. aureus</i> . | А. Ацетамидная среда. |
| 2. <i>S. thyphi</i> . | В. Сахарный бульон. |
| 3. <i>E. coli</i> . | С. Желчный бульон. |
| 4. <i>St. pyogenes</i> . | Д. Желчно-солевой агар. |
| 5. <i>Ps. aeruginosa</i> . | Е. Среда Эндо. |
- Ответы: 1 – В, Д; 2 – С, Е; 3 – Е;

4. Определите соответствие действия фермента его названию:

- | | |
|---------------------|---|
| 1. Гидролазы. | А. Катализируют окислительно-восстановительные реакции. |
| 2. Оксидаредуктазы. | В. Отщепляют химические группы не гидролитическим путем |
| 3. Трансферразы. | С. Вызывают расщепление протеинов, углеводов, липидов, путем присоединения молекулы воды. |
- :
- | | |
|--------------------------|---|
| 1. Вода. | А. Входят в состав различных клеточных структур. Необходимы для регулирования осмотического давления, РН, окислительно-восстановительного потенциала, для активации ферментов |
| 2. Белки | В. Необходимые компоненты цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. У некоторых бактерий выполняют роль запасных питательных веществ |
| 3. Нуклеиновые кислоты. | С. Выполняют пластическую функцию, входя в структуру клетки. Играют основную роль в обеспечении энергией процессов клеточного метаболизма, могут являться запасным питательным материалом |
| 4. Углеводы. | Д. Обеспечивают наследственные свойства и считывание генетической информации |
| 5. Липиды. | Е. Большая их часть выполняет ферментативные функции. |
| 6. Минеральные вещества. | Г. Является средой, где происходят биохимические процессы |

Ответы: 1-Г; 2-Е; 3-Д; 4-С; 5-В; 6-А.

Тесты 3 типа.

Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными.

Тесты 3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными. Выберите ответ.

А если верно 1,2,3	В если верно только 1,3	С если верно только 2,4	Д если верно только 4	Е если верно все
--------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-----------------------------	---------------------

1. Назовите механизмы питания бактерий:

- 1) Облегченная диффузия.
- 2) Активный перенос.
- 3) Транслокация радикалов.
- 4) Пассивная диффузия.

Ответ: Е.

2. Для выделения микроорганизмов предпочтительно использовать питательные среды:

- 1) Простые.
- 2) Элективные.
- 3) Сложные среды.
- 4) Обогащения.
- 5) Консерванты.

Ответ: С.

3. Определите действие ферментов изомераз:

- 1) Участвует в углеводном обмене.
- 2) Отщепляет химические группы не гидролитическим путем.
- 3) Катализирует окислительно-восстановительные реакции.
- 4) Способствует реакциям биосинтеза.
- 5) Осуществляет перенос отдельных атомов от молекулы к молекуле.

Ответ: Д.

4. При культивировании анаэробов по Фортнеру анаэробноз достигается за счет:

- 1) Горения свечи.
- 2) Вытеснения воздуха инертным газом.
- 3) Окисления кислорода.
- 4) Роста аэробов.

Ответ: Д.

5. Аутотрофы в качестве источника энергии используют:

- 1) Аминокислоты.
- 2) Спирты.
- 3) Углеводы.
- 4) Солнечную энергию

Ответ: Д.

Приложение № 1.

Первичная идентификация.

Для этой цели применяют комбинированные среды - Клиглера или Олькеницкого, на которых наряду с получением чистой культуры для дальнейшего изучения, выявляет одновременно несколько ее признаков: способность образовывать сероводород и отношение к глюкозе, лактозе, а также сахару и мочеvine - на среде Олькеницкого. Посев материала из колонии на комбинированную среду проводят бактериологической петлей, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при 37°C в теч. 15-20 часов, а при целенаправленном исследовании в течение того же времени, но при 20-25 °С.

Ферментацию лактозы в среде Клиглера судят по появлению желтой окраски в скошенной части агара, а о ферментации глюкозы - по такому же окрашиванию в столбике. Газообразование устанавливают по появлению пузырьков, разрывом агара и его отслоению от стенок пробирки. Образование сероводорода устанавливают по почернению среды, обычно в средней части столбика. Образование сероводорода может происходить лишь в кислой среде, которая создается за счет ферментации глюкозы, присущей всем энтеробактериям. Кроме того, при просмотре среды в проходящем свете в столбике обычно видны на общем черном фоне участки пожелтевшего агара.

По совокупности биохимических тестов, выявленных на комбинированной среде, делает предположительное заключение о возможной родовой принадлежности культуры. Далее выбирают дифференциально-диагностические тесты, необходимые для установления рода энтеробактерий (см. табл.), а затем определяют вид бактерий.

Раздел 2. Общая вирусология

Тема 7 и её актуальность:

«Общая вирусология. Вирусы: классификация, структура, их репродукция, культивирование, индикация. Вирусологический метод»

Вирусы человека являются возбудителями многих инфекционных заболеваний: гриппа, кори, ГЛПС, СПИДа, и т.д. Изучение вирусов начинается с изучения общей вирусологии, физиологии и биохимии вирусов и вирусов бактерий (бактериофагов).

2. Учебные цели: изучение физиологии и биохимии вирусов, методов индикации и идентификации вирусов.

2.1 В результате освоения темы студент должен уметь:

- заражать и вскрывать куриный эмбрион, ставить реакцию гемагглютинации, ставить реакцию торможения гемадсорбции.

2.2. Для формирования умения необходимо знать:

- репродукция вирусов, основные стадии взаимодействия вирусов и клетки
- методы культивирования вирусов;

- техника заражения вирусом куриного эмбриона
- особенности репродукции ДНК- и РНК- содержащих вирусов
- современные методы вирусологических исследований;
- методы индикации и идентификации вирусов;
- классификацию, строение и свойства вирусов.

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки:

4. Вид занятия: практическое занятие.

5. Продолжительность - 3 часа

6. Оснащение: таблицы, микроскопы, кабельное телевидение, компьютеры, пробирка с материалом, куриный эмбрион.

Демонстрации: Цитопатические изменения клеток культуры ткани, вызванные репродукцией вируса. Таблицы №№:

ОВ 1. Типы вирусов.

ОВ 12. Реакции гемагглютинации

ОВ 17. Способы заражения куриных эмбрионов.

ОВ.18. Заражение в желточный мешок куриного эмбриона

ОВ 19. Заражение в амниотическую полость

ОВ24. Продольный разрез 10-дневного куриного эмбриона

ОВ 26. Циркуляция вируса в оболочку зародыша куриного яйца

ОВ 20. Заражение в аллантоисную полость

ОВ 29. Видимые проявления действия в клеточных культурах

ОВ 28. Типы тканевых культур

ЧВ 9. Взаимодействие вируса гриппа с клеткой

7. Содержание занятия

7.1. Программа самостоятельной внеаудиторной подготовки к занятию.

Практические рекомендации по изучению отдельных разделов темы.

Вирусы существуют в двух формах: внеклеточная, покоящаяся – вирион и внутриклеточная – вегетативная.

Отличие вирусов от прокариотов:

- вирусы содержат только одну из нуклеиновых кислот ДНК или РНК;
- не имеют клеточного строения;
- не способны к делению и бинарному делению;
- не имеют собственных метаболических систем;
- воспроизводятся за счет одной нуклеиновой кислоты, а не за счет своих собственных составных частей;
- используют рибосомы клетки хозяина для синтеза собственных белков

Выявление вирусов.

I. Цитопатическое действие (ЦПД) – дегенеративные изменения в клетках, которые появляются в результате репродукции в них вирусов. Различают полную и частичную дегенерацию клеток монослоя. При полной дегенерации клетки подвергаются значительным изменениям, большое количество их слущивается со стекла. Остающиеся

клетки сморщены (пиккоз ядра и цитоплазмы). Такой вид дегенерации вызывают вирусы Коксаки и ЕСНО.

Частичная дегенерация имеет несколько видов:

1. По типу гроздеобразования – клетки округляются, увеличиваются, частично сливаются между собой с образованием характерных гроздевидных скоплений. Такой тип дегенерации вызывают аденовирусы.
2. По типу очаговой деструкции – на фоне в целом сохранившегося монослоя появляются очаги пораженных клеток (микробляшки). Такую дегенерацию клеток монослоя вызывают некоторые штаммы вирусов оспы, осповакцины, гриппа.
3. По типу симпластообразования – под действием вирусов клетки сливаются между собой с образованием гигантских многоядерных клеток – симпластов. Симпластообразование вызывают вирусы кори, паратита, парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, вирус гереса. Некоторые онкогенные вирусы трансформируют клетки в злокачественные вызывая их интенсивную пролиферацию – пролиферативный тип изменений.

II. Внутриклеточные включения. Образуются при репродукции некоторых вирусов в цитоплазме и ядре клеток (оспы, бешенства, гриппа, герпеса). Их обнаруживают при микроскопии после окраски стекол с монослоем по Романовскому-Гимзе. Электронная микроскопия дает возможность выявить в клетках отдельные вирионы и их кристаллоподобные скопления в ядре или цитоплазме. Диагностическое значение имеют тельца Гварниери при натуральной оспе и тельца Бабеша-Негри - при бешенстве.

III. Образование бляшек. Бляшки или негативные колонии вирусов представляют собой очаги разрушенных вирусом клеток монослоя под агаровым вскрытием. Очаги клеточной дегенерации (бляшки) выявляют путем окрашивания нейтральными красками, которые вводились в состав агарового покрытия, либо добавлялись непосредственно перед учетом результата. По числу бляшек

(стерильных пятен) на клеточном монослое определяют инфекционный титр вируса, т.е. концентрацию вирионов в 1 мл. среды.

IV. Реакции гемагглютинации. Это неспецифический феномен, вызываемый вирусами. Механизм таков: 1 стадия- адсорбция вирионов на поверхности эритроцитов; 2 стадия – агглютинация эритроцитов, нагруженных вирусами. Этой способностью обладают арбовирусы, аденовирусы, микровирусы, вирусы Коксаки и ЕСНО. Ингибиторы гемагглютинации нейтрализуют инфекционные свойства вирусов, содержатся в моче, слюне, коровьем молоке, курином белке.

V. Реакция гемадсорбции (РГадс) позволяет выявить вирус до развития ЦПД благодаря появлению на поверхности инфицированной клетки вирус-специфического антигена.

Логическая структура занятия

Микроорганизмы

Эукариоты

Прокариоты

ДНК содержащие

РНК содержащие

двунитчатая ДНК

однонитчатая ДНК

оболочечная

безоболочечная

безоболочечная

7.2. Перечень вопросов для выявления базисных знаний:

1. Царство Virae. Понятие о вирионе и вирусе, их определение.
Вирусы человека, животных, насекомых, растений, бактерий (фаги).
 2. Современные принципы классификации и номенклатуры вирусов.
 3. Вирионы, их морфология и структура (нуклеоид, капсид, капсомеры).
Типы симметрии нуклеокапсида. Внешняя оболочка.
 4. Химический состав вирионов (ДНК или РНК, белки, липиды, полисахариды).
 5. Отличия структурной организации и химического состава вирионов от бактериальных клеток.
 6. Вирусоспецифические ферменты, содержащиеся в вирионе и индуцированные в клетке хозяина.
 7. Гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства вирусов.
 8. Репродукция вирусов. Основные стадии взаимодействия вирусов с клетками хозяина при продуктивной инфекции.
 9. Особенности репродукции ДНК и РНК – вирусов.
 10. Понятие о вирогении, её механизмы и последствия для клетки.
 11. Методы культивирования вирусов в клеточных структурах (первичных, перевиваемых, полуперевиваемых), в куриных эмбрионах и в организме животных.
 12. Методы обнаружения (индикации) вирусов по цитопатическому действию.
 13. Методы титрования вирусов.
- VI. Программа самоподготовки студентов к выполнению аудиторной самостоятельной работы под руководством преподавателя.

№	Последовательность действий	Методические указания к деятельности и цель
1 этап	<ol style="list-style-type: none"> 1. Перед заражением скорлупу обрабатывают 70% спиртом, затем 2% йодом и вновь 70% спиртом. 2. Отмечают границы воздушной камеры при просвечивании яйца и проделывают небольшое отверстие пробойником. 3. Пастеровской пипеткой вводят 0,1-0,2 мл вирусосодержащего материала на глубину 2-3 мм ниже границы воздушной камеры. 4. Скорлупу вновь обрабатывают спиртом и йодом, затем заклеивают отверстие лейкопластырем. 5. Помещают в термостат на 48 часов при 37 С. 	Культивировать вирус гриппа в развивающемся курином эмбрионе.
II этап	<ol style="list-style-type: none"> 1. Обрабатывают скорлупу спиртом и йодом. 2. Рассекают скорлупу ножницами чуть выше границы воздушной камеры. Снимают скорлупу и рассматривают хориссалантоисную оболочку вокруг места заражения на наличие 	Определить наличие вируса с помощью реакции гемагглютинации.

	<p>белесоватых очагов поражения.</p> <p>3. Пастеровской пипеткой прокалывают аллантоисную оболочку в участке, свободном от сосудов и отсасывают аллантоисную жидкость.</p> <p>4. Ставят реакцию гемагглютинации на предметном стекле</p>	
--	--	--

1. Тема 8 и её актуальность

«Бактериофаги: структура, классификация, свойства. Контрольная работа 2 (темы № 4-8)»

1. Бактериофаги являются вирусами бактерий. Они представлены в природе и нашли широкое применение в медицине при лечении различных гнойных заболеваний.

2. Учебные цели: изучение строения и состава бактериофагов, фазы взаимодействия с бактериальной клеткой, их методы индикации и идентификации.

2.1 В результате освоения темы студент должен уметь:

- отличить бактериофаги от вирусов провести титрование бактериофагов и фаготипирование, овладеть навыками индикации бактериофагов, идентифицировать культуру по чувствительности к бактериофагу.

2.2. Для формирования умения необходимо знать:

- классификацию, строение и свойства бактериофагов.

- умеренные и вирулентные бактериофаги

- репродукция бактериофагов, основные стадии взаимодействия бактериофагов и клетки

- методы культивирования бактериофагов;

-- методы индикации бактериофагов;

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки:

4. Вид занятия: практическое занятие.

5. Продолжительность - 3 часа

6. Оснащение: таблицы, микроскопы, кабельное телевидение, компьютеры, пробирка с бактериальным материалом, поливалентные бактериофаги, питательная среда

Демонстрации:

- готовая реакция фаголизиса

- фаготипирование бактерий

Таблицы:

Анатомическое строение Т-четного фага

Морфологические группы бактериофага

Бактериофагия на питательных средах Строение бактериофага

7. Содержание занятия

Практические рекомендации по изучению отдельных разделов темы.

Все бактериофаги классифицируются по типу содержания в них нуклеиновой кислоты. По специфичности различают типовые, видовые и поливалентные

Отличие бактериофагов от прокариот:

бактериофаги содержат только одну из нуклеиновых кислот ДНК или РНК;

- не имеют клеточного строения;
- не способны к делению и бинарному делению;
- не имеют собственных метаболических систем;
- воспроизводятся за счет одной нуклеиновой кислоты, а не за счет своих собственных составных частей;

Выявление бактериофагов.

1. методом прямой фильтрации
2. методом Фюрта
3. методом Отто

В основе всех методов положен феномен бактериофагии д'Эррелля для проявления, которого исследуемый материал засевают совместно с гомологичной культурой микроорганизмов на плотные и жидкие питательные среды. Культуры микроорганизмов, чувствительные к выделенному фагу, называют тест-культурами.

Титрование бактериофагов. Может осуществляться:

- на жидких питательных средах по Аппельману.
- на плотных питательных средах по Грации

Применение бактериофагов

- фагопрофилактика
- фаготерапия
- фагодиагностика
- фаготитрование

Логическая структура занятия

		Бактериофаги	
		<u>ДНК содержащие</u>	<u>РНК содержащие</u>
<hr/>		<u>двунитчатая ДНК</u>	<u>однонитчатая ДНК</u>
оболочечная	безоболочечная		безоболочечная

в) перечень вопросов для выявления базисных знаний:

1. Царство Virae. Понятие о бактериофагах, их определение.
2. Современные принципы классификации и номенклатуры бактериофагов.

3. Морфология и структура бактериофагов.
4. Химический состав бактериофагов (ДНК или РНК, белки, липиды, полисахариды).
5. Отличия структурной организации и химического состава бактериофагов от бактериальных клеток.
6. Фагопрофилактика
7. Фаготерапия.
8. Фагодиагностика
9. Фаготитрование
10. Препараты бактериофагов
11. Методы культивирования бактериофагов.
12. Методы обнаружения (индикации) бактериофагов

I. Программа самоподготовки студентов к выполнению аудиторной самостоятельной работы под руководством преподавателя.

№	Последовательность действий	Методические указания к деятельности и цель
I этап	Обнаружение бактериофагов в материале	Качественные и количественные методы обнаружения бактериофагов
II этап	Изучение готовых демонстрационных материалов: -готовая реакция фаголизиса -фаготипирования бактерий Методы культивирования бактериофагов	Ознакомится с проявлениями действия бактериофагов на чувствительные к ним бактерии и определение типовых фагов к исследуемым стафилококкам и сальмонеллам

Вопросы к контрольной работе по темам № 4 – 8

1. Типы метаболизма бактерий
2. Разделение бактерий по типу питания и источникам энергии
3. Механизм переноса питательных веществ в клетку; пермиазы
4. Питательные среды: основные, элективные, дифференциальные – диагностические и специальные
5. Требования, предъявляемые к питательным средам
6. Методы культивирования бактерий
7. Определение вида, штамма, колонии, чистой культуры бактерий
8. Этапы выделения чистой культуры бактерий по методу Дригальского
9. Основные типы биологического окисления субстратов (аэробной и анаэробной).
Аэробы, факультативные анаэробы микроаэрофилы
10. Методы удаления кислорода для культивирования анаэробов
11. Этапы выделения чистых культур анаэробов
12. Ферменты микроорганизмов и их классификация
13. Пигменты микроорганизмов
14. Практическое использование биохимической активности микроорганизмов в микробиологической промышленности и медицинской микробиологии
15. Идентификация бактерий по ферментативной активности бактерий
16. Репродукция вирусов, основные стадии взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.

17. Методы культивирования вирусов в клеточных культурах, в курином эмбрионе и в организме животных.
18. Особенности культивирования риккетсий, хламидий, микоплазм.
19. Техника заражения вирусом куриного эмбриона.
20. Особенности репродукции ДНК- и РНК-содержащих вирусов.
21. Гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства вирусов.
22. Методы обнаружения (индикации) вирусов по цитопатическому действию, реакции гемагглютинации, гемадсорбации, бляшкообразованию, внутриклеточным включениям
23. Морфологические и структурные особенности фагов, химический состав
24. Фазы взаимодействия фага с бактериальной клеткой
25. Вирулентные и умеренные фаги
26. Лизогения, и ее значение, профаг, фаговая конверсия, дефектные фаги.
27. Распространение фагов в природе. Методы индикации и титрования бактериофагов
28. Применение фагов в микробиологии и медицине
29. Строение генома бактерий и вирусов. Понятие о генотипе и фенотипе
30. Подвижные генетические элементы, их роль, свойства
31. Плазмиды бактерий, их функции и свойства
32. Виды изменчивости. Мутации у бактерий, их разновидности. R- S- диссоциации бактерий
33. Механизмы передачи генетического материала
34. Микробиологические основы генной инженерии и биотехнологии
35. Медицинская биотехнология, её задачи и достижения
36. Компоненты новых генетических элементов, этапы получения их.
37. Молекулярно-биологические методы, использование в диагностике инфекционных болезней (ПЦР, метод молекулярных зондов)

Раздел 3. Генетика микроорганизмов

Тема и ее актуальность

«Генетика микроорганизмов. Молекулярно-генетический метод исследования»

Изучение закономерностей наследственности и изменчивости микроорганизмов имеет большое значение для понимания процесса эволюции всего живого на земле. Эти знания открывают широкие возможности для развития генной инженерии и биотехнологии.

2. Цель: изучение генетики бактерий и вирусов

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

2.1. Необходимо овладеть методами селекции бактериальных и вирусных мутантов и рекомбинантов и иметь представления о практическом значении генной инженерии в микробиологии, иммунологии, вирусологии и биотехнологии.

2.2. Для формирования умения необходимо знать следующие разделы:

- особенности организации генетического аппарата у бактерий и вирусов;
- модификация у вирусов и бактерий;
- мутации и мутагенез;
- репарации и их значение;
- генетический обмен и рекомбинации у бактерий и вирусов;
- плазмиды и транспозоны;
- теоретическое и практическое значение учения о генетике бактерий и вирусов.

2.3. Собеседование по следующим вопросам:

- Строение генома бактерий и вирусов. Понятие о генотипе и фенотипе.
- Подвижные генетические элементы, их роль свойств.
- Плазмиды бактерий, их функции и свойства.
- Виды изменчивости. Мутации у бактерий, их разновидности. R-, S- диссоциации бактерий.
- Механизм передачи генетического материала.
- Медицинская биотехнология, ее задачи и достижения. Компоненты новых генетических элементов, этапы получения их.
- молекулярно-биологические методы, использование в диагностике инфекционных болезней (ПЦР, метод молекулярных зондов)

3. Продолжительность занятия – 3 часа

4. Оснащение:

Диапозитивы:

«Схема опыта Хериних и Чейза, доказывающего, что носителем наследственной информации является ДНК, а не белок».

«Схема полуконсервативной репликации ДНК».

«Пути репродукции фага».

«Схема синтеза белковой молекулы на рибосоме».

«Регуляция экспрессии лактозного оперона».

«Клонирование фрагмента ДНК в плазмиде».

Таблицы:

216. Основные свойства микробных клеток из колоний.

185. Типы передачи наследственного вещества.

190. Схема передачи бактериальной плазмиды (Hly- фактора или одной из плазмид).

217. Механизм интеграции Hly- фактора в бактериальную хромосому.

57. Диссоциация у бактерий.

88. Формы изменчивости микроорганизмов.

Демонстрационные препараты:

1. Культура вульгарного протей, выращенная на среде с добавлением фенола и утратившая подвижность.

2. Культура, выращенные на чашках Петри с МПА и на МПА + хлористый натрий, лактоза

В последнем случае отмечается наличие бесцветных колоний.

6. Программа для самостоятельной внеаудиторной подготовки к занятию.

А) Логическая структура темы (ЛГТ).

Генетический аппарат бактерий и вирусов (ДНК, РНК, хромосомы, плазмиды)

Изменчивость	
Модификационная Фенотипическая Ненаследственная	Генотипическая Наследственная
Генетические рекомбинации: -конъюгации -трансдукция -трансформация	Мутации: -спонтанные -индуцированные -хромосомные -генные -точечные -прямые -обратные

Плазмиды бактерий

Конъюгативные

Неконъюгативные

Б) Практические рекомендации по изучению отдельных разделов темы.

Получить полное представление о строении ДНК и формах ее существования у бактерий и вирусов, обеспечивающих их функции в качестве единиц наследственности.

Обратить внимание на факторы и механизмы, обеспечивающие постоянство генотипа и определяющие его изменчивость.

В) Перечень вопросов для выявления базисных знаний:

1. Организация генетического аппарата у бактерий и вирусов.
2. Гено- и фенотип. Их определение и характеристика.
3. Модификация у бактерий и вирусов.
4. Мутации и мутагенез. Виды мутации у бактерий.
5. Генетический обмен и рекомбинации у бактерий.
6. Генетические рекомбинации у вирусов.
7. Трансформация у бактерий.
8. Трансдукция у бактерий.
9. Конъюгация у бактерий.
10. Плазмиды бактерий. Виды плазмид и их роль в детерминации патогенных признаков в лекарственной устойчивости у бактерий.
11. Значение мутаций, рекомбинаций и репараций в эволюции микроорганизмов
12. Теоретическое и практическое значение учения о генетике бактерий и вирусов для микробиологии и медицины.

13. Цели и задачи генной инженерии.

14. Практическое использование генной инженерии в медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии и биотехнологии.

7. Содержание занятия

7.1. Программа самоподготовки студентов к выполнению аудиторной самостоятельной работы под руководством преподавателя.

П.П.	Последовательность действий	Цель работы
1	Культуру протeya сеют в 2 пробирки с МПБ, в одну из которых был предварительно внесен 1%р-р фенола. После суточной инкубации при $t=37^{\circ}\text{C}$ определяют возможность протeya в препаратах, приготовленных из обеих пробирок. Неподвижную культуру протeya из пробирки со средой, содержащей фенол пересевают в МВП и инкубируют 18-20 часов	Культуры, выращенные в присутствии фенола, утрачивают способность к роению. Реверсия способности к роению
2.	Демонстрация и форм колоний кишечной палочки	
3	Опыт Ньюкасиба на чашках с МПА наносят по 2 мл бульонной культуры кишечной палочки, чувствительной к стрептомицину и равномерно распределяемой по поверхности среды легким покачиванием чашки. Избыток культуры отсасывают пипеткой и посеы инкубируют при 37°C 4-6 часов до появления первых признаков видимого роста. Затем на 3 чашках производят перераспределение бактерий, растирая поверхность среды шпателем. После этого на все 6 чашек (3 из которых остались контрольными) наносят по 1мл р-ра стрептомицина, содержащего 100 ед. и равномерно распределяет его по поверхности среды покачиванием крышечки. Посевы инкубируют 18-20 часов. Результаты опытов регистрируют путем подсчета выросших колоний на каждой чашке. При этом необходимо помнить, что колонии могут быть образованы только стрептомицин – устойчивыми клетками	Применяется для установления природы изменчивости бактерий, в частности к таким признакам как устойчивость к антибиотикам, фагам, и др. агентам. Если стрептомицин устойчивые клетки образуются под действием стрептомицина во время опыта, то их количество на всех чашках будет примерно одинаковым, независимо от произведенного перераспределения.
4	Постановка опыта трансформации устойчивости к стрептомицину Реципиент: культура чувствительная к стрептомицину. Донор: раствор ДНК, выделенный из стрептококка (устойчивый к стрептомицину) Селективная среда: МПА с 1% р-ром глюкозы и с 100 ед/мл стрептомицина. К 2 мл предварительно выращенной на сахарном бульоне культуры стрептококка добавляют 1мкг ДНК донора на 1мл р-ра. Смесь инкубируют при $t=37^{\circ}\text{C}$ 30 мин. Затем в пробирку вносят 0,1мл р-ра ДНК-азы в 0,6мл р-ра хлористого магния для разрушения ДНК, не проникшей в бактериальные клетки. После 5 мин инкубации 0,2мл смеси высевают на селективную среду в чашки Петри. В качестве контроля на ту же среду высевают культуру реципиента. Посевы инкубируют при $t=37^{\circ}\text{C}$ и на следующий день	Если исследуемая бактериальная культура содержала стрептомицин устойчивые клетки (мутанты) до ее обработки антибиотиком, то число колоний, выросших в контрольных чашках будет значительно меньше, чем в опытных, где производилось перераспределение бактерий шпателем. Это объясняется тем, что

	учитывают результаты опыта.	
5	<p>Опыт трансдукции.</p> <p>Реципиент: культура кишечной палочки умеренный фаг, выделенный из культуры, используемый в качестве донора.</p> <p>Селективная среда: с лактозой среда Эндо</p> <p>К 1 мл 3-х часовой культуры реципиента, выращенный в питательном бульоне, добавляют 1мл фаголизата, содержащего трансдуцирующий фаг в концентрации 10^6-10^7 частиц/мл. Смесь инкубируют при $t=37^{\circ}\text{C}$ 60 мин, после чего 0,1мл высевают на среду Эндо (посев производят шпателем). В качестве контроля, на среду Эндо высевают культуру реципиента. Чашки инкубируют до следующего дня. Учет результатов производят по числу выросших окрашенных колоний</p>	<p>после перераспределения исследуемой культуры, которая содержала стрептомицин устойчивые клетки число выросших колоний увеличивается примерно в 100 раз. Расчет показывает, что если на 100 чувствительных к стрептомицину клеток приходится одна устойчивая, то в опытных чашках после обработки антибиотиком вырастет примерно в 100 раз больше колоний, чем в контрольных</p>
6	<p>Постановка опыта конъюгации</p> <p>Донор: культура с генотипом (перенос маркеров в последовательности)</p> <p>Селективная среда: для выделения рекомбинантов: синтетическая минимальная среда, содержащая глюкозы – 2мл, 200 ед/мл</p> <p>Стрептомицина</p> <p>-6,8</p> <p>-0,1</p> <p>-1.0</p> <p>-0,01</p> <p>-0,0005</p> <p>Дистиллированной воды -1 л</p> <p>К 2 мл 3 часовой бульонной культуры реципиента добавляют 1 мл 3 часовой бульонной культуры донора</p> <p>Посевы инкубируют при $t=37^{\circ}\text{C}$- 30мин. Затем готовят разведения 10^{-1} и 10^{-2} и засевают их в объеме 0,1мл на минимальную среду со стрептомицином, на которой будут расти только рекомбинаты. В качестве контроля на ту же среду засевают культуры донора и реципиента. При этом обе культуры не могут расти на данной среде, т.к. первая чувствительна к стрептомицину, а вторая ауксотрофна по треонину и лейцину. Предварительно производят высев на минимальную среду без стрептомицина из культуры донора для определения количества жизнеспособных клеток. Частоту рекомбинаций вычисляют путем определения числа рекомбинантов на 100 бактерий</p>	

7.2. Тесты для контроля исходного и конечного уровня знаний

1	<p>Конъюгация – это:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Перенос генетической информации от донора к реципиенту с помощью умеренного бактериофага 2. Рекомбинация опосредованная плазмидами 3. Контакт бактерий через половые пили 4. Изменение свойств бактерий в результате 	2,3
---	---	-----

	включения в хромосому ДНК умеренного бактериофага	
2	<p>Трансформация – это:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Перенес генетической информации от донора к реципиенту с помощью умеренного бактериофага 2. Контакт бактерий через половые пили 3. Передача фрагмента ДНК клетки – донора реципиенту 4. Изменение свойств бактерий в результате включения в хромосому ДНК умеренного бактериофага 	3
3	<p>К вне хромосомным генетическим факторам наследственности бактерии не относятся:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Плазмиды 2. Бактериофаги 3. Транспозоны 4. Is-последовательности 5. Лизосомы 	2,5
4	<p>К факторам рекомбинативной изменчивости бактерий не относится:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Трансдукция 2. Мутация 3. Трансформация 4. Конъюгация 5. Диссоциация 	2,5
5	<p>S-формы бактериальной популяции имеют следующие признаки, кроме:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Выделяются у хронических больных 2. Дают гладкие колонии 3. Типичны по биохимическим свойствам 4. Имеют типичную морфологию 5. Выделяют в острой стадии болезни 	1
6	<p>Плазмиды – это:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Внехромосомные генетические структуры бактерий 2. Разновидность включений в цитоплазму 3. Аналог цитоплазматического ретикулума 	1
7	<p>Назовите внехромосомные факторы, не способные к самостоятельной репликации.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Транспозоны 2. Плазмиды 3. Is-последовательности 4. Умеренные бактериофаги 5. Половые пили 	1,3
8	<p>Антибиотикоустойчивость определяется:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. F – плазмидой 2. R – плазмидой 3. Бактериальной плазмидой 4. Транспозоном 5. Is-последовательностью 	2
9	Способность бактерий к конъюгации связана с	3

	наличием: 1. Жгутиков 2. Пилей общего типа 3. Половых пилей	
10	Конъюгация генетически детерминирована 1. F – плазмидой 2. Профагом 3. Хромосомной мутацией 4. R-плазмидой	1

Раздел 4. Экология микроорганизмов

Тема 10 и ее актуальность

«Экология микроорганизмов. Микрофлора Объектов окружающей среды. Микрофлора организма человека. Дисбактериоз»

Часть 1. Микрофлора объектов окружающей среды (1 час)

Микроорганизмы широко распространены в окружающей среде. Вода, воздух, почва характеризуются наличием санитарно-показательных микроорганизмов, определение которых необходимо для санитарно-бактериологической оценки этих объектов.

2. Цель и задачи обучения

Цель - изучение автохтонной и аллохтонной микрофлоры различных биотопов объектов окружающей среды, оценка ее санитарной роли

Для этого необходимо знать:

- санитарно-показательные бактерии;
- коли-титр, коли-индекс;
- типы взаимодействия между микробами в биоценозах;

В результате освоения темы студент должен уметь:

- определять микробное число воздуха методами Кротова и Коха;
- определять микробное число воды;
- проводить оценку санитарного состояния объектов окружающей среды.

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Для обеспечения исходного уровня знаний и умений предлагаются следующие вопросы:

1. Микрофлора объектов окружающей среды разнообразна и многочисленна, какие представители автохтонной и аллохтонной микрофлоры являются показателями их санитарного состояния?
2. Какие требования предъявляют к санитарно-показательным микроорганизмам?
3. Назвать основные показатели санитарного состояния воды, воздуха, почвы
4. Что такое коли-титр, коли-индекс?

4. Вид занятия: практическое занятие
5. Продолжительность занятия 3 часа

6. Оснащение: диапозитивы, учебные таблицы, аппаратура (баня водяная, термостат, аппарат Кротова, чашки Петри), инструменты (градуированные пипетки, пинцет, шпатель, бактериологические петли, спиртовка), набор красок.

7. Содержание занятия.

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений.

Задача 1. В какой срок взятия на исследование вода должна быть доставлена в лабораторию?

- Согласно ГОСТам, бактериологический анализ воды должен быть начат в течение 2-х часов после забора проб. При невозможности доставки за этот срок пробы сохраняют при температуре 1-5⁰С, но не дольше 6 часов.

Задача 2. Как проводят определение микробного числа воды?

- Для определения содержания микроорганизмов в воде проводят: во-первых, прямой подсчет микроорганизмов в специальных камерах, во-вторых, посев на питательные среды определенного объема воды, подсчет выросших колоний и перерасчет содержания микробов на единицу объема воды.

7.2. Разбор узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

Определение микробного числа водопроводной воды.

1 этап. Забор пробы воды.

1) Обжечь фламбированием водопроводный кран, открыть, спустить в течение 10 мин воду, отобрать воду в стерильный флакон (0,5 л) с соблюдением требований асептики, закрыть пробкой, не допуская ее смачивания.

2) Градуированной пипеткой набрать 1 мл исследуемой воды и внести в стерильную чашку Петри

3) Залить в чашку Петри 10-15 мл расплавленного и остуженного до 45⁰С питательного агара, тщательно перемешать круговыми движениями. Остудить.

4) После застывания агара чашку Петри перевернуть вверх дном, инкубировать при 37⁰С 24 часа

2 этап. Учет результатов.

Определение микробного числа воздуха.

1 этап. Отбор пробы воздуха.

Стерильные чашки Петри с плотной питательной средой открывают в месте отбора проб воздуха и выдерживают в течение 10 мин, после чего закрывают и инкубируют при 37⁰С 24 часа.

2 этап. Учет результатов.

По количеству выросших колоний подсчитывают микробное число воздуха, пользуясь правилом Омелянского, в соответствии с которым считают, что на поверхность питательной среды площадью 100см² в течение 5 мин оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 л воздуха:

$$X = \frac{A \times 100 \times 5 \times 1000}{v \times 10}$$

X – количество микробов в 1м³ воздуха
a – число колоний, выросших на чашке Петри
v – площадь чашки Петри

Обобщение вопросов, разбираемых на занятии. Подведение итога.

На основании полученных результатов микробного числа методами Коха и Кротова провести оценку санитарно-бактериологического состояния воздуха.

По результатам определения микробного числа произвести оценку санитарно-бактериологического состояния воды.

7.3. Демонстрация преподавателем методов практических приемов по данной теме.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

7.5.1. Тесты для оценки исходного и контрольного уровня знаний.

1 типа. Для каждого вопроса выберите правильный ответ

1. Санитарно-показательными микроорганизмами воды являются

- а) стрептококки
- б) вирусы
- в) кишечные палочки
- г) вибрионы
- д) микоплазмы

Ответ: в

2. Коли-титр водопроводной воды должен быть

- а) больше 333
- б) меньше 333
- в) 333
- г) 111
- д) меньше 111

Ответ: а

3. Санитарно-показательными микробами для почвы являются

- а) вирусы
- б) стафилококки
- в) микоплазмы
- г) сарцины
- д) клостридии

Ответ: д

4. Для определения микробного числа воздуха используют

- а) аппарат Кротова
- б) сухожаровой шкаф
- в) фильтр Зейтца
- г) автоклав
- д) свечи Шамберлена

Ответ: а

5. Инфекция, передаваемая воздушным путем

- а) СПИД
- б) грипп
- в) столбняк
- г) холера
- д) дизентерия

Ответ: б

2 типа. Вопросы с подбором ответов на соответствие (один ответ может быть использован один или несколько раз)

1. Санитарно-показательными организмами являются

- 1) термофилы
- 2) кишечные палочки
- 3) стафилококки

- А. Санитарно-показательные микробы воды
- Б. Санитарно-показательные микробы почвы
- В. Санитарно-показательные микробы воздуха

- 4) клостридии
- 5) протей
- 6) стрептококки

Г. Санитарно-показательные микробы загрязнения органическими отбросами

Ответы: 1 – Г, 2 – А,Б, 3 – В, 4 – Б, 5 – Г, 6 – В

2. Загрязнение почвы характеризуется

- 1) перфрингенс-титр 0,01-0,001
- 2) перфрингенс-титр ниже 0,0001
- 3) перфрингенс-титр выше 0,1
- 4) перфрингенс-титр 0,001-0,0001
- 5) перфрингенс-титр 1,0

- А. Почва слабо загрязнена
- Б. Почва умеренно загрязнена
- В. Почва чистая
- Г. Почва сильно загрязнена

Ответы: 1 - А, 2 - Г, 3 - В, 4 – Б, 5 – В

3. Подберите термины, эквивалентные данным понятиям

- 1) гнотобиология А. Физическая система из частиц, взвешенных в газовой среде
- 2) кариес
- 3) капиллярная микроскопия Б. Метод изучения микрофлоры воды и почвы
- 4) аэрозоль В. Наука, изучающая стерильных животных, животных с известным микробиоценозом
- 5) экология
- 6) определение коли-титра Г. Заболевание зубов, связанное с активацией нормальной микрофлоры ротовой полости рта
Д. Наука, изучающая взаимоотношения микроорганизмов со средой

Ответы: 1 - В, 2 - Г, 3 - Б, 4 - А, 5 - Д, 6 – Б

4. Виды биоценозов бывают

- 1) комменсализм А. Стимуляция размножения микробов другим сопутствующим видом
- 2) ассоциативный биоценоз
- 3) мутуализм Б. Оба партнера получают взаимную выгоду
- 4) метабиоз В. Один организм существует за счет другого, не причиняя ему вреда
- 5) синергизм Г. Организм продолжает процесс, вызванный другим
- 6) сателлизм Д. Усиление физиологических функций бактерий при совместном выращивании

Ответы: 1 -В, 2 –А,Б,В,Г,Д , 3 - Б, 4 - Г, 5 -Д, 6 – А

3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными.

- А – если правильная комбинация 1,2,3
- Б – если правильная комбинация 1 и 3
- В – если правильная комбинация 2 и 4
- Г – если верно только 4
- Д - если верны все ответы

1. Obligatная микрофлора полости рта:

- 1) стафилококки
- 2) пептококки
- 3) бактериоды

4) спирохеты

5) кандиды

Ответ: Д

2. Obligatная микрофлора кожи

1) стафилококки

2) сарцины

3) плесневые грибы

4) кишечные палочки

5) клостридии

Ответ: А

3. Факторы, способствующие размножению микробов в ротовой полости

1) курение

2) расстройство слюноотделения

3) кариес зубов

4) зубодесневые карманы

5) несъемные зубные протезы

Ответ: Д

4. Санитарно-показательные микроорганизмы должны

1) постоянно содержаться в выделениях человека и теплокровных животных

2) легко обнаруживаться современными микробиологическими методами

3) легко дифференцироваться от других видов

4) интенсивно размножаться в окружающей среде

5) после выделения в окружающую среду быстро погибать

Ответ: А

5. К формам антагонистических отношений между микробами в биоценозах относятся:

1) комменсализм

2) хищничество

3) синергизм

4) паразитизм

5) мутуализм

Ответ: В

7.5.2. Ситуационные задачи.

1. Какие виды симбиоза сложились между человеком и микроорганизмами?

Четко ли они разграничиваются?

- В симбиотических отношениях человека с условно-патогенными видами его микрофлоры мутуализм (взаимовыгодный симбиоз) или комменсализм (симбиоз, выгодный одному из партнеров, но не вредящий другому) могут переходить в паразитизм (антагонистический симбиоз, где один вид существует за счет другого, причиняя ему вред)

2. Какие из абиотических факторов оказывают наиболее заметное влияние на микроорганизмы?

- Многие сапрофитные микроорганизмы способны существовать в широком спектре условий. Патогенные микроорганизмы, как правило, более чувствительны к абиотическим факторам: дефициту влаги, действию света (менее чувствительные – пигментные), ультрафиолетовым лучам в диапазоне 250-300 нм, температуре и др.

3. Приведите пример биосферной деятельности микроорганизмов.

- Микроорганизмы участвуют в окислении и восстановлении элементов с переменной валентностью (азот, сера, железо и др.), в образовании осадочных пород и гумуса, создают месторождения сульфатов, серы, железа. Большинство микроорганизмов выполняют в круговороте веществ роль редуцентов, осуществляя деструкцию органических остатков. Но и микроорганизмы – продуценты не менее важны, например, фотосинтезирующие цианобактерии (круговорот кислорода), азотфиксирующие бактерии, которым наличие фермента нитрогеназы позволяет превращать свободный азот атмосферы в биогенный азот биосферы.

4. Является ли микрофлора организма идентичной у всех людей?

- Микрофлора организма человека состоит из резидентной (постоянной) и транзитной (случайной). В пределах видовой нормы она отличается в зависимости от пола, возраста, условий обитания, характера питания и др. Резидентная – представлена сапрофитными и условно-патогенными видами. Транзитная может быть и патогенной.

5. Какова роль микрофлоры в жизнедеятельности организма человека?

Роль микрофлоры разносторонняя. Микрофлора

- дополняет пищеварительные ферменты организма (кlostридии)
- поставляет витамины (эшерихии, бифидобактерии)
- тренирует иммунную систему
- является антагонистом патогенной флоры, но, в то же время, микрофлора

организма человека выделяет некоторые токсические продукты жизнедеятельности, а условно-патогенные виды, входящие в ее состав, являются причиной эндогенных, а также госпитальных инфекций.

6. Какое состояние называют «дисбактериозом»? Приведите примеры.

- Дисбактериозом является всякое количественное или качественное изменение микрофлоры за пределы нормы. Диагностическое и прогностическое значение могут иметь дисбактериозы у людей с часто повторяющимися инфекциями самой различной природы, например, кандидозы.

7. С какой целью проводится санитарно-бактериологический контроль воды?

Выявление и предупреждение потенциальной угрозы водных вспышек заболеваний путем постоянного контроля питьевой воды, контроля санитарного состояния открытых водоемов, а также контроль эффективности очистки сточных вод.

8. Какие группы вирусов бывают возможно определить в воде и использовать для оценки ее состояния?

Из загрязненных вод выделено более 100 различных вирусов, патогенных для человека. Чаще других выделяются энтеровирусы. По сравнению с кишечными бактериями энтеровирусы более устойчивы к применяющимся методам обеззараживания воды. Индикаторами вирусного загрязнения воды могут явиться колифаги. Методы санитарного исследования микрофлоры воды и ее оценки продолжают разрабатывать и совершенствовать.

9. Является ли воздух благоприятной средой для обитания микроорганизмов?

В связи с отсутствием в воздухе питательных веществ и недостатком влаги, микроорганизмы не способны размножаться в воздухе. Поэтому микрофлора воздуха аллохтонная. Источником загрязнения воздуха является микрофлора человека, животных, растений, почвы, водоемов. В настоящее время в воздушном бассейне иногда обнаруживаются штаммы-продуценты, используемые в микробиологической промышленности.

10. Что такое аэрозоль? Какие частички аэрозоля (крупные или мелкие) более опасны как фактор переноса микроорганизмов, почему?

Аэрозоль – коллоидная система, в состав которой входит воздух, капельки жидкости и частички твердого вещества размерами от 10 до 2000 нм. Наиболее опасен мелкий аэрозоль (до 100 нм), которые способны проникать в альвеолы легких.

11. Какие группы вирусов обнаруживаются в воздухе, какие методы используются? Применение аспирационных и электроседиментационных методов взятия проб воздуха и обычных вирусологических методов исследования позволяет оценить концентрацию вирионов в воздухе. На выживаемость вирусов в воздухе существенно влияет температура. Чем выше температура, тем короче срок выживания; при этом миксовирусы лучше выживают в условиях повышенной влажности, адено-, рео- и пикорнавирусы, наоборот, устойчивее в сухом воздухе.

Часть 2. «Микрофлора организма человека. Дисбактериоз» (2 часа)

Организм человека и микроорганизмы, населяющие кожные покровы и слизистые оболочки, представляют собой единую экологическую систему. Микроорганизмы выполняют важную роль в обеспечении неспецифической защиты организма человека.

При нарушении сложившегося в процессе эволюции баланса между организмом человека и его микробиотой возникают дисбиотические нарушения, на фоне которых развиваются различные заболевания, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, являющимися представителями нормальной микрофлоры.

Состояние дисбактериоза в последние годы встречается довольно часто, в связи с широким применением антибиотиков, гормональных препаратов, лучевой терапии, при возникновении экстремальных ситуаций, хронических заболеваний, у недоношенных детей и др. Своевременное выявление дисбактериоза и восстановление нормальной микрофлоры существенно улучшает состояние здоровья больного, а нередко играет решающую роль в его лечении.

2. Цель и задачи обучения

Цель - изучение нормальной микрофлоры различных биотопов организма человека, оценка ее роли в защите организма и развитии патологии при возникновении дисбиотических нарушений.

Для этого необходимо знать:

- представителей нормальной микрофлоры различных биотопов организма человека;
- количественные и качественные показатели нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- провести микробиологическую диагностику дисбактериоза, в частности кишечника;
- приготовить разведения исследуемого материала и посев на различные питательные среды;
- выделить чистую культуру микроорганизмов, провести ее идентификацию;
- провести количественный учет различных видов микроорганизмов;
- определить наличие и степень дисбактериоза, пользуясь показателями нормального состояния микрофлоры исследуемого биотопа.

3. Для обеспечения исходного уровня знаний и умений предлагаются следующие вопросы:

1. Микрофлора кишечника разнообразна и многочисленна, какие представители облигатной и сопутствующей микрофлоры являются показателями эубиоза кишечника?
2. Для исследования дисбактериоза кишечника необходимо иметь строго определенное количество исследуемого материала. Как сделать навеску?
3. Для получения изолированных колоний на питательной среде необходимо развести фекалии с 1:10 до 1:10⁻¹¹. Как это сделать?
4. Как известно колония – результат размножения одной материнской клетки. Подсчитав количество колоний, мы можем определить количество микробов в единице веса исследуемого материала. Как подсчитать количество колоний, следовательно, и микроорганизмов в исследуемом материале?

Эталоны ответов:

1. В состав микрофлоры кишечника входит около 500 видов микроорганизмов в количестве 10¹³-10¹⁵ КОЕ/г. Облигатная микрофлора представлена бифидобактериями, бактероидами, лактобактериями, эшерихиями, энтерококками; непостоянная микрофлора – условно-патогенными энтеробактериями, стафилококками, дрожжеподобными грибами, клостридиями.
2. Для отбора необходимого количества исследуемого материала используют стерильный бюкс, который предварительно взвешивают на весах. Затем в него помещают исследуемый материал и взвешивают повторно. Путем вычета веса пустого бюкса из веса бюкса с материалом определяют вес фекалий.
3. Для получения исходного разведения фекалий в бюкс вносят такое количество (мл) физ. раствора, чтобы получилось разведение 1:10 (первое разведение), затем из бюкса 1 мл первого разведения фекалий вносят во 2-ю пробирку с 10 мл физ.раствора, получают разведение 1:100 (2-е разведение) и т.д., то есть готовят ряд последовательных десятикратных разведений в 9-11 пробирках (от 10⁻¹ до 10⁻¹¹).
4. Количество колоний следует подсчитывать на той чашке Петри, в которой выросло учитываемое количество колоний (от 20 до 300), пользуясь специальным электросчетчиком или камерой Вольфгюгеля. Затем количество колоний необходимо умножить на степень разведения фекалий для того, чтобы определить их содержание в единице исследуемого материала. Содержание микроорганизмов выражают в колония образующих единицах в 1г фекалий – КОЕ/г.

4. Вид занятия: практическое занятие
5. Продолжительность занятия – 2 часа

6. Оснащение: микроскопы, TV, термостат, таблицы, спиртовки, набор красителей, бактериологическая петля, шпатель, питательные среды (Эндо, Плоскирева, КА, ЖСА, МРС, Блаурокка, Сабуро, Клиглера, среды Гисса, скошенный агар), физ.раствор, ПБДЭ, ПБДС.

7. Содержание занятия.

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений

1. Микрофлора кожи и слизистых оболочек (глаза, дыхательных путей и мочеполовых органов) здорового человека.
2. Микрофлора толстого кишечника: резидентная и факультативная.
3. Роль микрофлоры в нормальных физиологических процессах.
4. Представители нормальной микрофлоры тела человека как условно-патогенные микроорганизмы. Аутоинфекция, условия ее возникновения.
5. Дисбактериоз и его причины.
6. Критерии установления дисбактериоза кишечника.

7. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника.
8. Бактериальные препараты для профилактики и лечения кишечных заболеваний у детей

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия

1. Характеристика нормальной микрофлоры различных биотопов организма человека.

2. Качественный и количественный состав микрофлоры толстой кишки

3. Дисбактериоз кишечника, характер проявления

Обратить внимание

– на место локализации нарушений: кожа, слизистая полости носа, полости рта и ротоглотки, влагалища, кишечника;

- характер проявления дисбактериоза: 1 степень, 2 степень, 3 степень;

- этиологию дисбиотических проявлений: протейный, клебсиеллезный, стафилококковый, кандидозный, псевдомонадный, эшерихиозный.

4. Коррекция нарушений нормальной микрофлоры организма человека

7.3. Демонстрация преподавателем методов практических приемов по данной теме

1. Определение веса исходного материала.

2. Приготовление разведений

3. Первичный посев на питательные среды (поверхностный, глубинный), получение чистой культуры

4. Посев на среду Клиглера уколом и поверхностно штрихом.

5. Идентификация микроорганизмов

6. Подсчет колоний и расчет количественных показателей нормофлоры кишечника.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

«Диагностика дисбактериоза толстого кишечника»

№ п/п	Последовательность действия	Цель этапа и методические указания к деятельности
1 этап		
1	Приготовить разведения исследуемого материала от 10^{-1} до 10^{-11}	1г нативных фекалий растереть в ступе с 9 мл физ.р-ра (разведение 1:10). Из основного разведения готовят ряд последовательных десятикратных разведений до 10^{-11}
2	Засеять фекалии на среду Эндо	0,1 мл фекалий из разведений 10^{-4} - 10^{-6} нанести на поверхность среды в чашке Петри, равномерно распределить по поверхности с помощью шпателя или стеклянных бус. Инкубировать при 37°C 24 часа
3	Засеять фекалии на 5% КА	Так же
4	Засеять фекалии на среду Сабуро	Разведения 10^{-1} - 10^{-5} , инкубация при 28 - 30°C 3-5 суток
5	Засеять фекалии на среду ЖСА	Так же
6	Засеять фекалии в пробирки со средой Блаурокка	По 1 мл исследуемого материала из разведений 10^{-6} - 10^{-11} внести в пробирки с 9 мл среды, залить вазелином. Инкубировать при 37°C 4-6 суток
7	Засеять фекалии в пробирки со средой МРС	По 1 мл из разведений 10^{-5} - 10^{-7}
2 этап		

1	Подсчитать общее число колоний кишечной палочки на среде Эндо	Подсчет ведется с помощью камеры Вольфгюгеля или электросчетчика. Пересчитывают на 1 г фекалий.
2	Подсчитать число и определить % лактозонегативных (бесцветных) и слабо ферментирующих колоний (розовые) бактерий	
3	Отсеять все типы колоний энтеробактерий на среду Клиглера или Олькеницкого	Для последующей идентификации микроорганизмов посев проводят уколом в среду и распределением по поверхности. Инкубируют при 37°C 24 часа.
4	Провести учет на 5% КА - соотношение колоний кишечной палочки обладающей и не обладающей гемолизирующими свойствами - соотношение колоний кишечной палочки и кокковых форм бактерий - соотношение гемолизирующих и негемолизирующих кокков	Гемолиз проявляется в виде зоны просветления вокруг колонии. Морфологию микроорганизмов определяют при микроскопировании. Для получения чистой культуры подозрительные колонии пересеять на скошенный агар.
5	Учесть колонии грибов на среде Сабуро	Из подозрительных колоний готовят микропрепарат (нативный или окрашенный метиленовым синим) для выявления почкующихся клеток и псевдомицелия
6	Учесть рост бифидобактерий на среде Блаурокка	Из подозрительных колоний готовят мазки, красят по Граму. Учитывают грам- палочки напоминающие китайские иероглифы.
7.	Учесть рост лактобактерий на среде МРС	В мазках, окрашенных по Граму, учитывают грам+ палочки расположенные одиночно, парно, короткими цепочками.
8	Подсчитать число стафилококков, в т.ч. лецитиназоположительных колоний на среде ЖСА	Лецитиназоположительные стафилококки дают радужный ободок вокруг колонии. Для получения чистой культуры провести посев на скошенный агар.
3 этап		
1	Провести биохимическую идентификацию чистых культур микроорганизмов	Приготовить суспензию чистой культуры в физ.растворе – 10 ⁷ КОЕ/мл по стандарту мутности. Для идентификации использовать посев на «пестрый ряд» или дифференциально-диагностические пластины (тесты)
2	Провести расчет содержания микроорганизмов в 1 г фекалий (КОЕ/г)	Содержание бактерий в 1 г определяют путем умножения количества колоний выросших на питательной среде на соответствующее разведение фекалий.

Показатели нормограммы микрофлоры толстой кишки.

1. Общее количество кишечной палочки – 300-400 млн/г
2. Кишечная палочка со слабовыраженными ферментативными свойствами – до 10% от общего числа кишечной палочки
3. Лактозонегативная кишечная палочка – до 5%
4. Гемолизирующая кишечная палочка – 0%

5. Кокковые формы в общей сумме микробов – до 25%
6. % гемолизирующих стафилококков по отношению ко всем кокковым формам -0%
7. Бифидобактерии 10^7 и выше КОЕ/г
8. Микробы рода *Proteus* - 0
9. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* – 0.

Степени дисбактериоза.

- 1 степень (слабо выраженный дисбактериоз) – анаэробная флора преобладает над аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами, условно-патогенные бактерии (не более 2-х видов) высеваются в разведении 10^2 - 10^4 .

- 2 степень – проявляется угнетением деятельности анаэробных бактерий, суммарно их количество примерно равно содержанию аэробных бактерий. Условно-патогенные микроорганизмы выделяются в ассоциациях в разведениях 10^6 - 10^7 . Полноценные кишечные палочки заменяются их атипичными вариантами (лактозонегативные, гемолизирующие)

- 3 степень (выраженный дисбактериоз) характеризуется преобладанием аэробной микрофлоры, иногда вплоть до полного отсутствия бифидо- и лактобактерий. Резко возрастает количество условно-патогенных микроорганизмов (особенно часто выделяется золотистый стафилококк, протей, клебсиеллы, кандиды, реже – синегнойная палочка, клостридии).

8. Методическая разработка практического занятия.

В начале занятия проводится собеседование со студентами по вопросам, указанным выше. Проводится тестирование. Решаются ситуационные задачи.

Затем студенты получают исследуемый материал и питательные среды для работы, уяснив их назначение, приступают к выполнению практической работы под руководством преподавателя.

10. Контрольные задания для проверки усвоения изучаемого материала.

- 1) определить роль и значение нормальной микрофлоры организма человека
- 2) каковы показатели нормы качественного и количественного состава микрофлоры кожи и слизистых оболочек организма человека
- 3) назвать причины, способствующие нарушению нормофлоры организма
- 4) методы обнаружения дисбактериоза - нарушений качественного и количественного состава нормальной микрофлоры организма человека
- 5) составить план лечения и профилактики дисбактериоза

Приложение 1

Формы и методы контроля исходного и конечного уровня знаний, умений и навыков студентов

Тесты 1-го типа. Для каждого вопроса выберите один правильный ответ.

1. Определите, какие микробы не входят в состав постоянной микрофлоры толстой кишки:

- а) лактобактерии
- б) бифидобактерии
- в) катенобактерии
- г) бактериоиды
- д) шигеллы
- е) эшерихии

ж) энтерококки

Ответ: д

2. Определите, какие микробы не входят в состав факультативной микрофлоры толстого кишечника:

- а) клостридии
- б) синегнойная палочка
- в) бледная трепонема
- г) энтеробактерии
- д) грибы рода Кандида
- е) протей

Ответ: в

3. Определите, какие микробы из числа постоянной микрофлоры толстой кишки можно вырастить в аэробных условиях:

- а) бифидобактерии
- б) лактобактерии
- в) катенобактерии
- г) бактериоиды
- д) эшерихии

Ответ: д

4. Определите, какие микробы не входят в состав постоянной микрофлоры кожи:

- а) эшерихии
- б) коагулазоположительные стафилококки
- в) пропионобактерии
- г) микрококки

Ответ: а

5. Микроорганизмы, населяющие организм человека, были впервые описаны:

- а) Р.Кохом
- б) Л.Пастером
- в) А.Левенгуком
- г) И.Мечниковым
- д) Перетцем

Ответ: в

Тесты 2-го типа. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, выберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом.

1. Определите морфологию каждого вида микробов, составляющих нормальную микрофлору толстой кишки:

- | | |
|---------------------|---|
| 1. Бифидобактерии | А. Грам+, бесспорные полиморфные бактерии. Концы палочек раздвоены |
| 2. Лактобактерии | Б. Грам-, полиморфные, бесспорные, могут иметь вздутие на конце (наподобие воздушного шарика на веревочке) |
| 3. Катенобактерии | В. Грам+, полиморфные, бесспорные. Располагаются в виде цепочки и поодиночке. Могут иметь включения. |
| 4. Бактероиды | Г. Грам+ палочки, бесспорные, одинаковой длины, располагаются цепочками |
| 5. Кишечные палочки | Д. Грам+ кокки, овальной или округлой формы. Располагаются цепочками: короткими или длинными, поодиночке, парно, группами |
| 6. Энтерококки | Е. Грам- палочки, располагаются беспорядочно. |

Ответы: 1 - А, 2 - В, 3 - Г, 4 - Б, 5 - Е, 6 – Д

2. Назовите, какая питательная среда предназначена для определения вида микроба:

- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1. Бифидобактерии | А. Среда Эндо |
| 2. Лактобактерии | Б. Среда Блаурокка |
| 3. Эшерихии | В. МРС – 2 |
| 4. Стафилококки | Г. ЖСА |

Ответы: 1 - Б, 2 - В, 3 - А, 4 - Г.

3. Определите морфологию микробов, постоянно населяющих кожу здорового человека:

- | | |
|--|---|
| 1. Коагулазоотрицательные стафилококки | А. Грам+ палочки, располагающиеся в виде китайских иероглифов, полиморфные булабовидные, |
| 2. Микрококки | Б. Грам+ кокки, располагающиеся скоплениями |
| 3. Дифтероиды | В. Грам+ кокки, несколько крупнее других известных кокков. Колонии на питательной среде желтого цвета (вплоть до оранжевого) цвета или розового (вплоть до красного) цвета.
Г. Грам- палочки |

Ответ: 1 – Б, 2 – В, 3 – А.

4. Определите, какой степени дисбактериоза соответствуют следующие показатели микрофлоры толстой кишки.

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. 1-я степень (компенсированная) | А. Количество бифидобактерий равно 10^7 КОЕ/г фекалий. Существенные изменения в составе факультативно-анаэробной микрофлоры.
Дисфункция кишечника. |
| 2. 2-я степень | Б. Количество бифидобактерий 10^9 КОЕ/г. Встречаются дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i> и бактерии рода <i>Proteus</i> . |
| 3. 3-я степень (декомпенсированная) | В. Бифидобактерии определяются на нижней границе нормы (10^6 КОЕ/г). Много дрожжеподобных грибов рода <i>Candida</i> и бактерий рода <i>Proteus</i> . Дисфункция кишечника. |

Ответ: 1 – Б, 2 – В, 3 – А.

5. Определите соответствие микробов препаратам:

- | | |
|-------------------|--|
| 1. Бактисубтил | А. Препарат из живых кишечных палочек М-17 |
| 2. Бифидобактерии | Б. Препарат из спор сенной палочки |
| 3. Бификол | В. Препарат из молочно-кислых бактерий |
| 4. Лактобактерин | Г. Препарат из бифидобактерий и кишечной палочки |
| 5. Колибактерин | Д. Препарат из бифидобактерий. |

Ответ: 1 - Б, 2 - Д, 3 - Г, 4 –В, 5 –А.

6. Подберите к терминам соответствующее смысловое значение:

- | | |
|---------------------------|--|
| 1. Аутохтонная микрофлора | А. Постоянная |
| 2. Аллохтонная | Б. Непостоянная |
| 3. Индигенная | В. Микрофлора стенки слизистой кишечника |
| 4. Просветная | Г. Микрофлора содержимого полого органа |

Ответ: 1 - А, 2 - Б, 3 - А, 4 - Д.

7. Определите, к какому типу дыхания относятся представители нормальной микрофлоры толстой кишки

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Бифидобактерии | А. Строгие аэробы |
| 2. Лактобактерии | Б. Строгие анаэробы |
| 3. Бактероиды | В. Факультативные анаэробы |
| 4. Энтерококки | Г. Микроаэрофилы |
| 5. Кишечная палочка | |
| 6. Грибы рода Candida | |

Ответ: 1 - Б, 2 - Г, 3 - Б, 4 - В, 5 - В, 6 - В.

Тесты 3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными.

Выберите ответ: А – если правильная комбинация 1,2,3

Б – если комбинация 1 и 3

В – если верно сочетание 2 и 4

Г – если верный ответ 4

Д – если все ответы правильные.

1. Для установления дисбактериоза кишечника выявляют количество:

- 1) кишечных палочек
- 2) бифидобактерий
- 3) лактобактерий
- 4) энтерококков
- 5) патогенные и условно-патогенные энтеробактерии
6. Дрожжеподобные грибы рода Candida

Ответ: Д

2. Показанием для назначения исследований на дисбактериоз является:

- 1) длительно протекающая кишечная дисфункция, при которой не удается выделить патогенную микрофлору
- 2) воспаление суставов
- 3) возникновение дисфункции кишечника на фоне неэнтеральной патологии (пневмония, гнойно-септические заболевания и др.) при длительном лечении антибиотиками
- 4) головные боли

Ответ: Б

3. Назовите условия, способствующие развитию дисбактериоза:

- 1) экстремальные ситуации
- 2) терапия антибиотиками, гормонами, иммунодепрессантами
- 3) воздействие радиации

4) кишечные инфекции и неинфекционные заболевания
желудочно-кишечного тракта

Ответ: Д

4. На дисбактериоз кишечника указывает:

1) Наличие кокковых форм микробов до 25% общего количества
микроорганизмов

2) Наличие бифидобактерий в количестве 10^6 КОЕ/г фекалий

3) Наличие кишечных палочек в количестве 400 млн. КОЕ/г

4) Большое количество дрожжеподобных грибов рода *Candida*

Ответ: В

5. Для восстановления нормальной микрофлоры толстой кишки применяется:

1) Колибактерин

2) Лактобактерий

3) Бификол

4) Антибиотики

Ответ: А

Тесты 4 типа. Следует определить:

1. Верное или неверное каждое из приведенных утверждений

2. Если верны оба утверждения, определить имеется ли между ними причинная
зависимость.

Ответ	Утверждение 1	Утверждение 2	Связь
А	верно	верно	верно
Б	верно	не верно	не верно
В	верно	не верно	не верно
Г	не верно	верно	не верно
Д	не верно	не верно	не верно

1. Основную микрофлору толстого кишечника человека составляет кишечная
палочка, т.к. она легко выделяется на питательных средах при обычной атмосфере.

Ответ: Г

2. Эшерихии выполняют полезную роль для человека, т.к. участвуют в синтезе
витаминов и являются антагонистами некоторых патогенных микробов.

Ответ: А

3. Бифидобактерии выполняют полезную роль для человека, т.к. имеют
бифуркацию (раздвоение) на конце.

Ответ: Б

4. Бактероиды являются строгими аэробами, поэтому их можно вырастить на
питательной среде при обычной атмосфере.

Ответ: Д

5. Эшерихии разлагают лактозу с образованием кислоты, поэтому на среде Эндо их
колонии бесцветны.

Ответ: В

Ситуационные задачи:

1. У больного пневмонией ребенка 6 лет на 7-й день лечения пенициллином в
испражнениях появилась кровь и слизь, стул жидкий. При посеве фекалий на чашках
Петри обнаружен массивный рост дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Ваше
заключение?

2. При посеве фекалий здорового ребенка 12 лет на МПА в чашке Петри выросли в основном колонии кишечной палочки. Можно ли на этом основании сделать вывод о количественном преобладании этого вида микроорганизмов в кишечнике?

Для ответа на вопросы по теме занятий, проведения самостоятельной работы необходимы знания из курсов физики и химии:

- а) весы и взвешивание (типы весов, правила взвешивания, работа с разновесами)
- б) лабораторная посуда (типы, градуировка, подготовка к работе)
- в) приготовление растворов и их разведений.

Приложение 2

Логическая структура диагностики дисбактериоза кишечника

1. Бактериологический метод: - посев испражнений для определения количественного и качественного состава микрофлоры толстой кишки.

Посев на питательные среды	Подсчет колоний	Пересев на среду	Идентификация микроорганизмов	Определение содержания, КОЕ/г
Эндо	- темно-красные – кишечная палочка, - розовые – слабовыраженные ферментативные свойства - бесцветные - лактозонегативные	Клиглера или Олькеницкого	Патогенные и УП энтеробактерии (ПБДЭ)	Подсчет колоний микроорганизмов в разведениях, пересчет на единицу исследуемого материала
Плоскирева	- бесцветные - лактозонегативные			
Блаурокка	бифидобактерии		микроскопия	
МРС	лактобактерии			
5% кровяной агар	Определение соотношения гемолизирующих и негемолизирующих кокков и палочек	СА	тест-системы	
Среда Сабуро	Дрожжеподобные и плесневые грибы		микроскопия, ферментация сахаров	
ЖСА	Стафилококки в т.ч. лецитиназо-положительные	ПА	ПБДС	

2. Экспресс-диагностика: Определение аспарагил-глицина
Газожидкостная хроматография

1. Тема 11 и ее актуальность:

«Влияние на микроорганизмы факторов внешней среды. Микробиологические основы стерилизации, дезинфекции. Антибиотики»

Актуальность темы: Микроорганизмы, находящиеся во внешней среде, подвергаются воздействию самых разнообразных физических и химических факторов. На этом явлении основан процесс стерилизации, т.е. полного уничтожения вегетативных форм микроорганизмов и их спор в различных материалах. Знание экологических свойств бактерий облегчит изучение частного раздела микробиологии

и клинических дисциплин (инфекционные болезни, эпидемиология) на старших курсах.

2. Цель обучения: изучение экологии микроорганизмов, воздействие факторов среды на микроорганизмы, методы стерилизации, химиотерапии.

В результате освоения темы студент должен уметь:

- пользоваться аппаратурой, используемой для стерилизации (автоклав, сушильный шкаф, фильтры) ;
- освоить метод пастеризации
- проводить стерилизацию кипячением.
- определять чувствительность микроорганизмов к антибиотикам

Для формирования умений студент должен знать:

- морфологию, физиологию микроорганизмов, методы их индикации, идентификации
- Действие физических, химических, биологических факторов на микроорганизмы
- изменчивость микроорганизмов под воздействием внешних факторов

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Вид занятия - практическое занятие

4. Продолжительность – 3 часа.

Антибиотики – продукты жизнедеятельности живых организмов или их синтетические аналоги, избирательно подавляющие жизнедеятельность других организмов или опухолевых клеток. По происхождению выделяют антибиотики растительного (фитонциды), животного (лизозим) и микробного (пенициллин) и синтетические (левомецетин) препараты. Механизм действия антибиотиков связан с точками их приложения в бактериальной клетке. Выделяют антибиотики, действующие на синтез белка на рибосомах, структуру клеточной стенки, цитоплазматическую мембрану, синтез нуклеиновых кислот. Антибиотикотерапия как вариант химиотерапии влечет за собой ряд побочных явлений, связанных с точками приложения и химической структурой антибиотика (токсическое действие, дисбиоз, аллергия, иммуносупрессия и др.). В связи с этим для уменьшения побочных эффектов разработаны и применяются принципы рациональной антибиотикотерапии:

- 1) обоснование показаний к антибиотикотерапии;
- 1) выбор антибиотика по спектру действия;
- 2) подбор дозы;
- 3) оптимальная кратность введения препарата;
- 4) сочетание антибиотиков с различными точками приложения;
- 5) определение чувствительности возбудителя к антибиотикам (индивидуальная антибиотикограмма).

Задание 1

Цель. Овладеть навыком определения чувствительности бактерий к антибиотикам методом индикаторных дисков.

Задача. В клинику поступил больной с диагнозом: «Стафилококковая пневмония». Для успешного этиологического лечения в целях выбора эффективного антибиотика было рекомендовано определение антибиотикограммы возбудителя. Проведите исследование. Оцените результат. Сделайте вывод.

Методика.

1. Исследуемую культуру суспензируют в 2 мл стерильного физиологического раствора и готовят 1- миллиардную взвесь по стандарту мутности.

1. Бактериальную взвесь (1 мл) стерильной пипеткой наливают на поверхность среды в чашку Петри и равномерно распределяют путем покачивания (либо шпателем). Избыток жидкости удаляют пастеровской пипеткой. Шпатель и пипетки помещают в стакан с дезраствором.

2. На различные участки засеянного агара пинцетом помещают диски с антибиотиками (6-8), стараясь не касаться агара. Диск с пинцетом слегка прижимают к агару.

3. Чашки с посевами помещают в термостат на 18-24 часа.

4. Через сутки проводят оценку результата опыта путем измерения зоны задержки роста (в миллиметрах) бактерий по диаметру, включая бумажный диск.

Результаты выполненной работы оформляют в виде протокола исследования.

Шкала оценки чувствительности бактерий к антибиотикам

Размер зоны задержки роста, мм	чувствительность
До 10	Не чувствителен
Более 10	чувствителен

Протокол исследования

Цель...

Вид возбудителя	Результат посева на чувствительность к антибиотикам (рисунок с обозначениями)	Величина зон задержки роста, мм								
		Антибиотики								
		1	2	3	4	5	6			

Вывод: сформулировать ответ на вопрос: к каким антибиотикам чувствителен выделенный возбудитель? Какой антибиотик Вы рекомендуете для лечения и почему?

Задания 2

Цель. Определить чувствительность бактерий к антибиотикам методом серийных разведений.

Задача. Для назначения больному рациональной схемы лечения пенициллином потребовалось определить бактериостатическую и бактерицидную концентрацию препарата по отношению к возбудителю – золотистому стафилококку.

Методика.

1. В пробирки разливают стерильный мясо-пептонный бульон (МПБ) по 1 мл.
2. Добавляют исследуемый антибиотик в различных концентрациях: от 1 до 128 ед/мл.
3. Заливают в пробирки 18-часовую бульонную культуру стафилококка по 1 мл.
4. Инкубируют посевы в термостате 24 часа.
5. Через сутки учитывают результаты опыта.
 - а) Определяют минимальную подавляющую (бактериостатическую) концентрацию антибиотика (МПК). За нее принимают наименьшую концентрацию антибиотика, при которой не происходит размножение бактерий и содержимое пробирки остается прозрачным.
 - б) Определяют минимальную бактерицидную концентрацию антибиотика (МБК). Для этого из пробирок с отсутствием видимого роста и из пробирки с минимальной концентрацией антибиотика, где рост есть (контроль), производят высев секторами на мясо-пептонный агар в чашки Петри. На секторах обозначают концентрацию антибиотика, из которой сделан высев. Чашки относят в термостат на 18-24 часа.
6. Через сутки просматривают чашки и определяют МБК по отсутствию роста бактерий на агаре в соответствующих секторах.

Результат выполненной работы оформляют в виде протокола исследования.

Протокол исследования

Цель...

Концентрация антибиотика в МПБ, ед/мл	128	64	32	16	8	4	2	1	К	
Наличие роста микроба в МПБ (мясо-пептонный бульон)										МПК
Наличие роста микроба при высеве на МПА (мясо-пептонный агар)										МБК

Вывод (Ответить на вопросы: 1. Почему МБК выше, чем МПК? 2. Может ли быть наоборот? 3. Почему?).

Стерилизация. Микроорганизмы, находящиеся во внешней среде, подвергаются воздействию самых разнообразных физических и химических факторов. На этом явлении основан процесс стерилизации, т.е. полного уничтожения вегетативных форм микроорганизмов и их спор в различных материалах

Тесты 1 типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ:

1. К методам стерилизации относятся:
 - а) тиндализация
 - б) заражение лабораторных животных
 - в) инкубация в термостате
 - г) лизогения
 - д) бактериологическое исследование

Ответ А

2. Стерилизация сухим жаром проводится:

- а) в автоклаве
- б) на водяной бане
- в) в печи Пастера
- г) в аппарате Коха
- д) с помощью УФО

3. Для обезоруживания воздуха используют

- а) водяную баню
 - б) бактерицидную лампу
 - в) фильтр Зейтца
 - г) фильтровальные свечи
 - д) коллоидные фильтры
- Ответ: б

4. Температура размножения мезофилов:

- а) 0 - 20°
- б) 20 - 45
- в) 45 - 70°
- г) 70 - 100°

Ответ: б

5. Разбор с преподавателем следующих узловых вопросов необходимых для освоения темы занятия.

1. Действие на микроорганизмы факторов окружающей среды.
2. Влияние физических факторов (температура, высушивание, лучистая энергия, ультразвук, высокое давление).
3. Понятие стерилизации.
4. Основные методы стерилизации.
5. Стерилизация методом кипячения, ее эффективность для различных видов микроорганизмов.
6. Устройство и режим работы сухожарового шкафа.
7. Устройство и режим работы автоклава.
8. Устройство и принцип работы бактериальных фильтров (Зейтца, Шамберлана, Беркефельда).
9. Понятие о химическом методе стерилизации.

6. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя

Проведение по плану лабораторной работы:

1. Проверка чистоты культуры кишечной палочки и культуры антракоида путем приготовления мазков и окраски препаратов (по Граму и Ожешко).
2. Стерилизация эмульсии обеих культур кипячение в водяной бане в течение 30 минут.
*
3. Проверка качества стерилизации: пересевом кишечной палочки на МПБ, антракоида на МПА.
4. Термостатирование при температуре 37 градусов в течение 24 часов.

5. Учет получения результатов. В случае неэффективности предложить свои методы стерилизации.

7. Контроль усвоения знаний

Для каждого вопроса выберите один правильный ответ:

1. Для стерилизации лабораторной и аптечной посуды используют
- а) сухой жар
 - б) пастеризация
 - в) тиндализация
 - г) дератизация
 - д) бактериальные фильтры

Ответ: а

2. Для стерилизации жидкостей, портящихся при нагревании, используют

- а) прокаливание
- б) автоклавирование
- в) сухой жар
- г) бактериальные фильтры
- д) дезинсекцию

Ответ: г

3. В сухожаровом шкафу применяют температуру:

- а) 20 градусов
- б) 37 градусов
- в) 75 градусов
- г) 120 градусов
- д) 180 градусов

Ответ: д

4. Пастеризацию используют для стерилизации:

- а) бактериальных петель
- б) молочных продуктов
- в) питательных сред
- г) стеклянной посуды
- д) материала, содержащего споры

Ответ: б

Приложение №1

Основные подходы к классификации антибиотиков

По происхождению:

Антибиотики, образуемые:

- 1) бактериями (грамицидин, полимиксины и др.)
- 2) актиномицеты (левмоцитин, тетрациклин и др.)
- 3) грибами (пенициллин, цефалоспорины и др.)

По способу получения:

- 1. естественные (биосинтетические)

2. полусинтетические
3. синтетические

По спектру антимикробного действия:

Антибиотики:

- 1) узкого спектра действия: пенициллин – Гр (+) кокки, спирохеты, леворин – грибы;
- 2) широкого спектра действия: тетрациклины – Гр (+) и Гр (-) бактерии, риккетсии, хламидии, микоплазмы; левомицитин – Гр (+) и Гр (-) бактерии, риккетсии, хламидии.

По группам чувствительных микроорганизмов:

- 1) антибактериальные (пенициллин, цефалоспорины, тетрациклины, левомицитин)
- 2) противогрибковые (леворин, нистатин, амфотерицин В и др.)
- 3) противопротозойные (нистатин)

По эффекту действия:

- 1) бактериостатические (тетрациклины, левомицитины и др.)
- 2) бактерицидные (цефалоспорины, канамицин и др.)

По механизму действия:

- 1) ингибиторы синтеза пептидогликана клеточной стенки (пенициллины, цефалоспорины и др.)
- 2) повреждающие цитоплазматическую мембрану (нистатин, леворин, полимиксины и др.)
- 3) нарушающие синтез белка нуклеиновых кислот (рифампицин, новобиоцин и др.)

Приложение № 2 Антибиотикорезистентность

<i>Резистентность</i>	<i>основные механизмы</i>	<i>Откуда врач узнает о ней?</i>
Первичная (видовая)	Обусловленные генотипом, отсутствие «мишени» для данного антибиотика	Из описания спектра действия препарата (справочник, аннотации и т.п.)
Приобретения	Может быть приобретена вследствие: мутации, рекомбинации, передачи R-плазмид или транспозонов Реализуются вследствие: инактивации антибиотиков ферментами; изменения проницаемости ЦПМ; утраты или изменения строения «мишени» появления обходных путей метаболизма	При определении чувствительности к антибиотикам штамма, выделенного от данного больного методом стандартных дисков или серийных разведений.

Контрольные вопросы и ответы для самостоятельной внеаудиторной работы

Назначение химиотерапевтического индекса Химиотерапевтический индекс (определение)	Оценка избирательности действия химиопреперата Отношение минимальной лечебной дозы препарата к максимальной переносимой. Должно быть меньше 1.
Основные группы химиотерапевтических препаратов	1.антибиотики 2.сульфаниламиды 3.производные различных химических веществ (нитроксолин, фурадонин, хинидин)
Антибиотики (определение)	Продукты метаболизма живых организмов или их синтетические аналоги, избирательно подавляющие рост микроорганизмов или опухолевых клеток
Группы антибиотиков по происхождению	1. животные 2. микробные 3. растительные 4. полусинтетические 5. синтетические
Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам	Метод индикаторных дисков и метод серийных разведений
Осложнения антибиотикотерапии	1. токсическое действие 2. аллергия 3. дисбиоз 4. иммуносупрессия

Тесты для контроля исходного и конечного уровня знаний

1	Антибиотики, ингибирующие синтез белка на рибосомах, это: 1. Тетрациклин 2. Стрептомицин 3. Эритромицин 4. Нистатин	1,2,3
2	Сульфаниламидные препараты получают: 1.Путем химического синтеза 2.Экстракцией из бактерий-продуцентов 3.Экстракцией из грибов – продуцентов 4.Экстракцией из актиномицетов – продуцентов 5.Из растений	1
3	К методам получения антибиотиков не относится: 1. Биологический синтез 2. Химический синтез 3. Комбинированный метод 4. Бактериологический метод 5. Аллергический метод	4,5
4	Антибиотики вызывают следующие побочные действия, кроме: 1. Развитие аллергических реакций 2. Дисбактериоза 3. Нарушение формирования полноценного иммунитета	4

	4. Воспалительных реакций 5. Токсических реакций	
5	Лекарственная устойчивость бактерий не связана с: 1. Отсутствием «мишени» для действия антибиотика 2. Мутациями в генах 3. Мутации в хромосоме 4. R – плазмидой 5. F - плазмидой	5
6	Первичная антибиотикорезистентность обусловлена: 1. Наличием ферментов, инактивирующих антибиотика 2. Наличием капсулы 3. Отсутствием «мишени» для действия антибиотика 4. Изменением проницаемости клеточной оболочки 5. Наличием споры	1
7	К антибиотикам, нарушающим, функцию цитоплазматической мембраны относятся: 1. Пенициллины 2. Полимиксины 3. Тетрациклины 4. Нистатин 5. Эритромицин	2,4
8	Природными продуцентами антибиотиков являются: 1) стафилококки 2) грибы 3) актиномицеты 4) бациллы 5) энтеробактерии	2,3,4
9	Основным механизмом молекулярного действия антибиотиков пенициллинового ряда является: 1) ингибирования синтеза клеточной стенки 2) нарушение синтеза белка 3) нарушение синтеза ДНК 4) нарушение функционирования клеточной мембраны	1
10	Оксациллин является препаратом выбора для инфекции, вызванной: 1) <i>Staphylococcus aureus</i> 2) <i>Chlamydia trachomatis</i> 3) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2

Раздел 5. Инфекция и иммунитет

Тема 12 и ее актуальность:

«Инфекция. Биологический метод исследования. Патогенные свойства микроорганизмов»

Раздел "Инфекция" включает сложные процессы взаимодействия микроба-паразита с организмом хозяина, характер которых определяется биологическими свойствами возбудителя, состоянием, реактивностью микроорганизма и той средой, в которой происходит контакт между ними.

2. Цель: изучение биологических методов исследования

2.1. Уметь - заразить белую мышь внутрибрюшинно суточной культурой стафилококка;

- посеять культуру стафилококка на среды для изучения факторов патогенности;

-произвести бактериологическое исследование

трупов белых мышей, павших после заражения;

-сделать заключение о форме инфекции и возможных причинах гибели

животного

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

2.2. Для формирования умения необходимо знать:

-методы экспериментального заражения животных;

-факторы патогенности микробов;

- формы инфекции по локализации возбудителя

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки

1. Понятие об инфекции, инфекционном процессе

2. В чем особенности инфекционных заболеваний

3. Условия возникновения инфекции

4. Роль микробов в развитии инфекции

5. Биологические свойства микробов, вызывающих инфекционный процесс

4. Вид занятия- практическое занятие

5. Продолжительность – 3 часа.

6. Оснащение: Диапозитивы. Таблицы. Культуры стафилококка. Лабораторные животные для заражения - белые мыши. Наборы инструментов для заражения и вскрытия животных.

7. Содержание занятия

7.1. Вопросы для контроля базисных знаний из курсов нормальной анатомии, нормальной физиологии и биологии:

1. Анатомо-физиологические особенности органов грудной полости

2. Анатомо-физиологические особенности органов брюшной полости

3. Техника заражения белых мышей

7.2. Контрольные вопросы для самоподготовки:

1. Понятие "инфекция", "инфекционный процесс", "инфекционная болезнь". Условия возникновения инфекционной болезни.

2. Роль микроба-возбудителя в инфекции. Патогенность и вирулентность.

3. Пути проникновения микроба в организм. Распространение бактерий, вирусов и токсинов в организме больного.

4. Динамика развития инфекционной болезни. Периоды.

5. Формы инфекции: экзогенная, эндогенная, очаговая и генерализованная, моно- и смешанная, вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция.

6. Понятие о раневых, респираторных, кишечных, кожно-венерических инфекциях, антропонозных и зоонозных

7. Токсины бактерий, природа и свойства

8. Инфекционные свойства вирусов

9. Механизмы фагирования персистентной инфекции

10. Биологический метод исследования

7.3. Практические рекомендации по изучению отдельных разделов темы

Экспериментальное заражение животных.

При внутрибрюшинном заражении мышь фиксируют головой вниз, чтобы кишечник переместился к диафрагме. В левой нижней части трети живота делают прокол кожи, держа иглу под острым углом, затем переводят шприц в положение, перпендикулярное брюшной стенке, толчкообразным движением прокалывают брюшину и вводят содержимое шприца Бактериологическое исследование трупов белых мышей

Цель исследования:

1. Установить вид инфекции по происхождению и по локализации возбудителя у подопытного животного
2. Определить вирулентность взятого в опыт стафилококка.

План исследования:

1. Макроскопическое исследование. Отметить состояние подкожной клетчатки и лимфатических узлов. Осмотреть органы грудной полости. Осмотреть органы брюшной полости, характер экссудата, величину, цвет и консистенцию печени и селезенки
2. Микроскопическое исследование: приготовить следующие мазки:
 - а) мазок из крови сердца;
 - б) мазок-отпечаток легкого;
 - в) мазок из асцитической жидкости;
 - г) мазок - отпечаток печени;
 - д) мазок-отпечаток селезенки.
3. Бактериологическое исследование

Параллельно с приготовлением мазков сделать посевы из тех же органов на питательные среды. Результаты посевов учитывают на следующий день после инкубации в термостате. Данные вскрытия трупа протоколируются. Труп животного после вскрытия подлежит уничтожению.

7.4. Самостоятельная работа студентов под руководством преподавателя

Ориентировочная основа действия студентов

№ пп	Последовательность	Методические указания к деятельности цель	Ориентировочные признаки
1.	Проверка культуры стафилококка на чистоту	Приготовление мазка и окраска по Граму	
2.	Приготовление смыва культуры, соответствующего оптическому стандарту мутности (в 1мл – 1 млрд.мкр. тел)	Соблюдать осторожность и осторожность в работе	
3.	Произвести внутрибрюшинное заражение белой мыши в дозе 500 млн.МЕ		
4.	Бактериологическое исследование трупов белых мышей: а) макроскопическое исследование б) микроскопическое исследование	Обратить внимание на состояние подкожной клетчатки, органов грудной и брюшной полости Приготовить мазки и окрасить их методом Грама: а) мазок из крови сердца; б) мазок-отпечаток легкого; в) мазок из асцитической жидкости;	По результатам микроскопии мазков поставить предварительный диагноз

	г) мазок-отпечаток печени; д) мазок-отпечаток селезенки	Повторное заражение тем же микробом после выздоровления
в) бактериологическое исследование-1 этап	Сделать 5 соответствующих посевов в пробирки с МПБ	Циркуляция токсинов в крови
г) бактериологическое исследование-2 этап	Учесть результаты посевов на питательных средах. Сделать заключение	Возврат симптомов болезни Циркуляция микробов в кровеносном русле Длительное нахождение вируса в организме
		По результатам бактериологического исследования поставить окончательный диагноз

7.5. Контрольные задания для проверки усвоения изученного материала:

1. При бактериологическом исследовании трупа белой мыши, павшей после заражения, стафилококки обнаружены в асцитической жидкости и крови. Сделать заключение о форме инфекции и возможных причинах гибели животного.
2. В бактериологии существует понятие " ферменты патогенности". В чем его смысл? Объяснить значение бактериальных ферментов в развитии инфекционного процесса (инвазия, деструкция тканей).
3. Объяснить механизмы генерализации инфекционного процесса. Что такое бактериемия, вирусемия, сепсис, септицемия, септикопиемия ?
4. Объяснить диалектику воспалительной реакции в ходе инфекционного процесса. Что такое пиогенные бактерии?
5. Перечислить и охарактеризовать периоды инфекционного процесса.

8. Тесты I типа

Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ:

1.Скрытый период болезни:

- а) бактерионосительство
- б) продром
- в) реконвалесценция
- г) инкубационный период
- д) суперинфекция

Ответ: г

2. К бактериальным экзотоксинам относится:

- а) гемолизин
- б) рибонуклеаза
- в) пептидогликан
- г) бактериофаг
- д) пермеаза

Ответ: а)

3. Механизм передачи кишечных инфекций :

- а) фекально-оральный
- б) трансплацентарный
- в) трансмиссивный
- г) контактный

Для каждого вопроса выберите соответствующий ответ:

А- если вопрос связан только с А

В - если вопрос связан только с В

С - если вопрос связан с В,С и Д

Д - если вопрос не связан ни с А, ни с В, ни с Д.

4. Отметить токсины, продуцируемые данными бактериями:

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| 1. Пиогенный стрептококк | А. Эксеротоксин |
| 2. Холерный вибрион | В. Стрептолизин |
| 3. Клостридии столбняка | С. Эритрогенный токсин |
| 4. Пиогенный стафилококк | Д. Тетаноспазмин |
| 5. Возбудитель скарлатины | Е. Гемолизин |

Ответ: 1- В, С,Е , 2-А , 3-Д,Е, 4-А,Е, 5-С

Тесты 3 типа

Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными.

Выберете ответ: А- если правильная комбинация 1,2,3

В- если правильная комбинация 1 и 3

С- правильно сочетание 2 и 4

Д- верно только 4

Е- если все ответы правильны

1. Инфекционный процесс зависит от :

1. Патогенного микроорганизма
 2. Восприимчивости макроорганизма
 3. Условий внешней среды
 4. Колонизации слизистых оболочек
 5. Величины инфицирующей дозы
- Ответ : Е

2. Ферменты агрессии микроба:

1. Гиалуронидаза
 2. Гемолизин
 3. Нейраминидаза
 4. Липаза
 5. Гидралаза
- Ответ : А

3. Экзотоксины :

1. Белки
 2. Обладают тропизмом
 3. Термолабильны
 4. Участвуют в развитии вирусных инфекций
 5. Не обладают антигенными свойствами
- Ответ- А

4. Единица измерения вирулентности:

1. Единицы связывания
 2. Миллилитры
 3. Международные единицы
 4. Минимальная смертельная доза
 5. Антигенные единицы
- Ответ: Д

5. Фактор бактериальной инвазии:

1. Эндотоксин
 2. Гиалуронидаза
 3. Медиатор
 4. Нейраминидаза
 5. Плазмида
- Ответ: С

Тесты 4 типа. Определить

1. Верно или неверно каждое из приведенных утверждений
2. Если верны оба утверждения, имеется ли между ними причинная зависимость.

Выберите ответ, используя приведенную ниже схему:

Ответ	Утверждение 1	Утверждение 2	Связь
А	верно	верно	верно
В	верно	верно	неверно
С	верно	неверно	неверно
Д	неверно	верно	неверно
Е	неверно	неверно	неверно

1. Ассоциированная инфекция - это заболевание, обусловленное двумя или несколькими микроорганизмами.

Ответ: С

2. Токсинемия - это вид локализованной инфекции, обусловленной действием эндотоксина.

Ответ : С

3. Эндотоксин - это липополисахарид клеточной стенки грамотрицательных бактерий, используемый для приготовления анатоксина.

Ответ: Б

4. Бактериемия - это разновидность генерализованной инфекции, так как возбудители локализуются в кровеносном русле.

Ответ : А.

5. При вертикальном пути передачи инфекций заражение происходит внутриутробно, так как возбудители проникают в плод через плаценту.

Ответ: А.

1. Тема 13 и ее актуальность:

«Формы инфекционного процесса. Контрольная работа 3 (темы № 9-13)»

Раздел "Инфекция" включает сложные процессы взаимодействия микроба-паразита с организмом хозяина, характер которых определяется биологическими свойствами возбудителя, состоянием и реактивностью макроорганизма, а также той средой, в которой происходит контакт между ними.

2. Цель: изучение биологических методов исследования

Уметь

- заразить белую мышь внутрибрюшинно суточной культурой стафилококка;
- посеять культуру стафилококка на среды для изучения факторов патогенности;
- произвести бактериологическое исследование трупов белых мышей, павших после заражения;
- сделать заключение о форме инфекции и возможных причинах гибели животного

Для формирования умения необходимо знать:

- методы экспериментального заражения животных;
- факторы патогенности микробов;
- формы инфекции по локализации возбудителя

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки:

1. Источники, резервуар инфекции
2. Механизмы и пути проникновения инфекции
3. Пути распространения инфекции в организме
4. Формы инфекции
5. Биологический метод исследования
4. Вид занятия- практическое занятие
5. Продолжительность – 3 часа

6. Оснащение: Диапозитивы. Таблицы. Культуры стафилококка. Лабораторные животные для заражения: белые мыши. Наборы инструментов для заражения и вскрытия.

7. Содержание занятия

7.1. Вопросы для контроля базисных знаний из курсов нормальной анатомии, нормальной физиологии и биологии:

1. Анатомо-физиологические особенности органов грудной полости
2. Анатомо-физиологические особенности органов брюшной полости
3. Техника заражения белых мышей

7.2. Контрольные вопросы для самоподготовки:

1. Понятие "инфекция", "инфекционный процесс", "инфекционная болезнь" Условия возникновения инфекционной болезни.
2. Роль микроба-возбудителя в инфекции. Патогенность и вирулентность.
3. Пути проникновения микроба в организм. Распространение бактерий, вирусов и токсинов в организме больного.
4. Динамика развития инфекционной болезни. Периоды.
5. Формы инфекции: экзогенная, эндогенная, очаговая и генерализованная, моно- и смешанная, вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция.
6. Понятие о раневых, респираторных и кишечных инфекциях, кожно-венерических болезнях, антропонозных и зоонозных инфекциях
7. Токсины бактерий, природа и свойства
8. Инфекционные свойства вирусов
9. Механизмы фазирования персистентной инфекции
10. Биологический метод исследования

7.3. Практические рекомендации по изучению отдельных разделов темы

Экспериментальное заражение животных.

При внутрибрюшинном заражении мышь фиксируют головой вниз, чтобы кишечник переместился к диафрагме. В левой нижней части трети живота делают прокол кожи, держа иглу под острым углом, затем переводят шприц в положение, перпендикулярное брюшной стенке, толчкообразным движением прокалывают брюшину и вводят содержимое шприца.

Бактериологическое исследование трупов белых мышей

Цель исследования: 1. Установить вид инфекции по происхождению и по локализации возбудителя у подопытного животного

2. Определить вирулентность взятого в опыт стафилококка.

План исследования:

1. Макроскопическое исследование. Отметить состояние подкожной клетчатки и лимфатических узлов. Осмотреть органы грудной полости. Осмотреть органы брюшной полости, характер экссудата, величину, цвет и консистенцию печени и селезенки
2. Микроскопическое исследование: приготовить следующие мазки:
 - а) мазок из крови сердца;
 - б) мазок-отпечаток легкого;

- в) мазок из асцитической жидкости;
- г) мазок - отпечаток печени;
- д) мазок-отпечаток селезенки.

3. Бактериологическое исследование

Параллельно с приготовлением мазков сделать посевы из тех же органов на питательные среды. Результаты посевов учитывают на следующий день после инкубации в термостате. Данные вскрытия трупа протоколируются. Труп животного после вскрытия подлежит уничтожению.

7. 4. Самостоятельная работа студентов под руководством преподавателя

Ориентировочная основа действия студентов

№ПП	Последовательность	Методические указания к деятельности цель	Ориентировочные признаки
1.	Проверка культуры стафилококка на чистоту	Приготовление мазка и окраска по Граму	
2.	Приготовление культуры, соответствующего оптического мутности (в 1мл – 1 млрдмкр. тел)	Соблюдать осторожность и осторожность в работе	
3.	Произвести внутрибрюшинное заражение белой мыши в дозе 500 млн.м.е.		
4.	Бактериологическое исследование трупов белых мышей: а) макроскопическое исследование б) микроскопическое исследование	Обратить внимание на состояние подкожной клетчатки, органов грудной и брюшной полости Приготовить мазки и окрасить их методом Грама: а) мазок из крови сердца; б) мазок-отпечаток легкого; в) мазок из асцитической жидкости; г) мазок-отпечаток печени; д) мазок-отпечаток селезенки	По результатам микроскопии мазков поставить предварительный диагноз

	б) бактериологическое исследование-1 этап в) бактериологическое исследование-2 этап	Сделать 5 соответствующих посевов в пробирки с МПБ Учесть результата посевов на питательных средах. Сделать заключение	По результатам бактериологического исследования поставить окончательный диагноз
--	--	---	---

7.2. Контрольное задания для проверки усвоения изученного материала:

1. При бактериологическом исследовании трупа белой мыши, павшей после заражения, стафилококки обнаружены в асцитической жидкости и крови. Сделать заключение о форме инфекции и возможных причинах гибели животного.
2. В бактериологии существует понятие " ферменты патогенности". В чем его смысл? Объяснить значение бактериальных ферментов в развитии инфекционного процесса (инвазия, деструкция тканей).
3. Объяснить механизмы генерализации инфекционного процесса. Что такое бактериемия, вирусемия, сепсис, септицемия, септикопиемия?
4. Объяснить диалектику воспалительной реакции в ходе инфекционного процесса. Что такое пиогенные бактерии?
5. Перечислить и охарактеризовать периоды инфекционного процесса.

8. Тесты I типа

Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ:

1. Скрытый период болезни:
 - а) бактерионосительство
 - б) продром
 - в) реконвалесценция
 - г) инкубационный период
 - д) суперинфекция

Ответ: г

2. К бактериальным экзотоксинам относится:
 - а) гемолизин
 - б) рибонуклеаза
 - в) пептидогликан
 - г) бактериофаг
 - д) пермеаза

Ответ: а)

3. Механизм передачи кишечных инфекций:
 - а) фекально-оральный
 - б) трансплацентарный
 - в) трансмиссивный
 - г) контактный
 - д) воздушно-капельный

Ответ: а)

4. При антропонозных инфекциях, их источникам являются:
 - а) животные
 - б) почва
 - в) воздух

2. Холерный вибрион
3. Клостридии столбняка
4. Пиогенный стафилококк
5. Возбудитель скарлатины

- В. Стрептолизин
- С. Эритрогенный токсин
- Д. Тетаноспазмин
- Е. Гемолизин

Ответа: I- В, С,Е , 2-А , 3-Д,Е, 4-А.Е, 5-С

Тесты III типа

Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными.

Выберете ответ: А- если правильная комбинация 1,2,3

В- если правильная комбинация I и 3

С- правильно сочетание 2 и 4

Д- верно только 4

Е- если все ответы правильны

1. Инфекционный процесс зависит от:

1. Патогенного микроорганизма
2. Восприимчивости макроорганизма
3. Условий внешней среды
4. Колонизации слизистых оболочек
5. Величины инфицирующей дозы

Ответ: Е

2. Ферменты агрессии микроба:

1. Гиалуронидаза
2. Гемолизин
3. Нейраминидаза
4. Липаза
5. Гидралаза

Ответ: А

3. Экзотоксины:

1. Белки
2. Обладают тропизмом
3. Термолабильны
4. Участвуют в развитии вирусных инфекций
5. Не обладают антигенными свойствами

Ответ- А

4. Единица измерения вирулентности:

1. Единицы связывания
2. Миллилитры
3. Международные единицы
4. Минимальная смертельная доза
5. Антигенные единицы

Ответ: Д

5. Фактор бактериальной инвазии:

1. Эндотоксин
2. Гиалуронидаза
3. Медиатор
4. Нейраминидаза
5. Плазмида

Ответ: С

Тесты IV типа. Определить

1. Верно или неверно каждое из приведенных утверждений

2. Если верны оба утверждения, имеется ли между ними причинная зависимость.

Выберите ответ, используя приведенную ниже схему:

Ответ	Утверждение 1	Утверждение 2	Связь
А	верно	верно	верно

В	верно	верно	неверно
С	верно	неверно	неверно
Д	неверно	верно	неверно
Е	неверно	неверно	неверно

1.Ассоциированная инфекция - заболевание, обусловленное двумя или несколькими микроорганизмами.

Ответ: С

2.Токсинемия- вид локализованной инфекции, обусловленной действием эндотоксина.

Ответ: С

3.Эндотоксин - это липополисахарид клеточной степени грамотрицательных бактерий,используемый для приготовления анатоксина.

Ответ: Б

4.Бактериемия - разновидность генерализованной инфекции, так как возбудители локализуются в кровеносном русле.

Ответ: А.

5.При вертикальном пути передачи инфекций заражение происходит внутриутробно, так как возбудители проникают в плод через плаценту.

Ответ: А.

Вопросы к контрольной работе по темам № 9 -13

1. Действие на микроорганизмы физических и химических факторов. Понятия о стерилизации, дезинфекции, асептике и антисептике.
2. Методы стерилизации. Методы контроля эффективности стерилизации.
3. Механизмы действия дезинфицирующих средств.
4. Дезинфекция в микробиологической лаборатории: рук, рабочего места, выделений больного, предметных и покровных стекол.
5. Типы взаимодействия между микробами в биоценозах.
6. Антибиотики, классификация по источникам выделения, по спектру действия, по механизму действия.
7. Побочные действия антибиотиков на микроорганизмы и на макроорганизм.
8. Механизм развития антибиотикоустойчивости; пути преодоления.
9. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
10. Противовирусные препараты, механизм действия.
11. Нормальная микрофлора организма человека и её функции.
12. Аутохонная, аллохтонная и заносная из внешней среды микрофлора.
13. Микрофлора толстого кишечника: резидентная и факультативная.
14. Дисбактериоз и его причины; бактериологическая диагностика.
15. Эубиотики: состав, применение.
16. Возрастные особенности микрофлоры человека. Динамика микрофлоры кишечника у новорожденных детей.

17. Санитарно-показательные микроорганизмы, требования, предъявляемые к ним
18. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха, воды и почвы
19. Методы санитарно-микробиологического исследования воды, почвы и воздуха.
20. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха, воды и почвы.
21. Методы санитарно-микробиологического исследования воды, почвы и воздуха.
22. Понятие «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь», условия возникновения инфекционной болезни.
23. Роль микроба-возбудителя в инфекции, патогенность и вирулентность. Факторы вирулентности.
24. Токсины бактерий, природа и свойства. Инфекционные свойства вирусов. Токсические компоненты риккетсий, хламидий и вирусов.
25. Пути проникновения микроба в организм; распространение бактерий, вирусов и токсинов в организме.
26. Методы выявления факторов патогенности: токсигенность, альфа-, бета-, гамма-, энтеро-, тиолзависимые гемолизины.
27. Биологический метод исследования.
28. Динамика развития инфекционной болезни.
29. Формы инфекции: экзогенная и эндогенная, очаговая и генерализованная, моно- и смешанная, вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция. Особенности вирусных инфекций.
30. Понятие о раневых, респираторных, кишечных, кожно-венерических, антропонозных и зоонозных инфекциях.

1. Тема 14 и ее актуальность:

«Иммунитет. Основы против инфекционного иммунитета»

Иммунная система функционирует в двух главных режимах:

1) Врожденный (неспецифический) иммунитет

2) Альтернативный (приобретенный), механизм, которого действует в тесном содружестве. Иммунный ответ всегда начинается с неспецифических реакций.

Неспецифические факторы иммунной защиты – это выработанные в процессе филогенеза генетически закрепленные и передающиеся по наследству факторы определенного вида организма к различным антигенам, зависит от биологических особенностей каждого организма. Неспецифические и специфические факторы защиты функционируют, оставляя единую целостную систему защиты от антигенов (например, возбудителей инфекционных заболеваний). В зависимости от характера антигенного воздействия ведущими могут быть или одна, или несколько форм реагирования. Представления о главном комплексе гистосовместимости (ГКГ, МНС) сложились при изучении пересадки органов и тканей в пределах донного вида животных. Антигены, определяющие наиболее сильную реакцию отторжения, получили название главных антигенов гистосовместимости. Они кодируются генами хромосомной области, которая известна как главный комплекс гистосовместимости. Антигены ГКГ отличаются выраженным полиморфизмом, который вносит решающий вклад в антигенную индивидуальность.

2. Учебные цели: Изучение основных неспецифических и специфических факторов иммунной системы, антигенную структуру микроорганизмов, главный комплекс гистосовместимости.

- а) Для формирования профессиональных компетенций студент должен уметь определить напряженность врожденного иммунитета: выявить наличие агглютинации и установить титр нормальных антител: выявить незавершенный фагоцитоз.
- б) Для формирования профессиональных компетенций студент должен знать:
 - анатомо-физиологические особенности органов иммунной системы.
 Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Вопросы для самоподготовки:

- 1) Современное определение понятия «иммунитет». Виды иммунитета, их основные отличия.
- 2) Неспецифические факторы иммунитета: механические, физико-химические, клеточные и гуморальные.
- 3) Фагоцитоз; фагоцитирующие клетки; основные стадии фагоцитоза; завершённый и незавершённый фагоцитоз.
- 4) Система комплемента, пути активации. Роль комплемента в хемотаксисе, опсонизации микробов, развитии аллергических и иммунопатологических процессов.
- 5) Интерфероны; классификация; иммунное и биологическое значение. Пропердиновая система.
- 6) Антигены, свойства.
- 7) Антигены детерминанты, их строение. Проявления антигенной специфичности: видовая, групповая, органная, гетероспецифическая.
- 8) Гаптены, свойства. Аутоантигены
- 9) Главный комплекс гистосовместимости, антигены гистосовместимости 1 и 2 классов.
- 10) Антигены бактерий: группо-, видо-, типоспецифические; протективные перекрестнореагирующие антигены, суперантигены. Антигенная мимикрия.

4. Вид занятия: Практическое занятие.

5. Продолжительность – 3 часа.

6. Оснащение: телевизор, таблицы, микроскопы.

7. Содержание занятия

- 7.1 Контроль исходного уровня знаний и умений с применением тестов.
- 7.2 Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.
- 7.3 Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.
- 7.4 Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя:

1. РА на обнаружение нормальных АГ

Состав: 1. Сыворотка здорового человека

2. О- АГ S typhi

3. Электролит – физиологический раствор

Схема постановки реакции

Ингредиенты В мл	пробирки				
	опытные				Контроль на Аг
	1	2	3	4	
Изотонический раствор хлорида натрия (мл)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Сыворотка здорового человека 1:10 (мл)	1,0	1,0	1,0	1,0	-
Разведения сыворотки	1:20	1:40	1:80	1:160	-
Диагностикум (0.1 мл=2 капли)	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Результат					
Заключение					

Для определения нормальных антител берут у здорового человека шприцем кровь из локтевой вены в количестве 2-3 мл и дают ей свернуться. Образовавшийся сгусток отделяют, а сыворотку отсасывают в чистую пробирку и готовят ряд разведений 1:10 до 1:160 следующим образом: во все пробирки разливают по 1 мл (20 капель) физиологического раствора, затем в 1-ю пробирку этой же пипеткой наливают 1 мл сыворотки, разведенной 1:5, перемешивают с физиологическим раствором, получают разведение 1:20 и так же получают разведения 1:40, 1:30 и 1:160.

В отдельную контрольную пробирку и наливают 1 мл физиологического раствора без сыворотки (контроль антигена). Во все пробирки закапывают по 2 капли брюшнотифозного диагностикума. Штатив ставят в термостат на 2 часа при температуре 37, а затем оставляют на сутки при комнатной температуре.

При учете реакции сначала просматривают контрольную пробирку. В ней при легком встряхивании наблюдается равномерное помутнение, хлопьев не должно быть. Опытные пробирки просматривают одновременно с контрольной, держа в одной руке и встряхивая. При положительной реакции обнаруживаются хлопья из склеенных бактерий. Учитывают максимальное разведение сыворотки, при котором произошла отчетливая агглютинация (титр сыворотки)

2. Микроскопия и зарисовка готового препарата «незавершенный фагоцитоз при острой гонорее». Микробиологический диагноз острой гонорее ставится на основании микроскопии мазков гноя из уретры или вагины, окрашенных синькой и по Грамму. Присматривая такой мазок, обязательно нужно найти поле зрения, в котором было бы видно лейкоцит, содержащий большое количество (незавершенный фагоцитоз).

Тесты

1. Основная функция иммунной системы:

1. Контроль процессов пролиферации
2. Поддержание молекулярного постоянства организма
3. Поддержание генетического гомеостаза организма
4. Обеспечение оптимальных условий тканевого обмена
5. Обеспечение рециркуляции клеток

Ответ: 3

2. Клетки, определяющие специфический характер реагирования иммунной системы:

1. Макрофаги
2. Лимфоциты
3. Моноциты
4. Гранулоциты
5. Тучные клетки

Ответ: 1,2,3

3. Клетки, не относящиеся к аксессуарным (вспомогательным) клеткам иммунного ответа:

1. Моноциты

6. Антигензависимость. Ответ: 1,2,3,6
12. Положения, справедливые для понятия «врожденный иммунитет»
1. Специфичность
 2. Индуцируется антигенами
 3. Базируется на лимфоцитарных реакциях.
 4. Включает факторы и механизмы первой линии противомикробной защиты.
 5. Обладает иммунологической памятью. Ответ: 4
13. Иммунологическая специфичность.
1. Означает способность клеток иммунной системы дифференцировать «свое» и «чужое».
 2. Отражает способность избирательно реагировать на антигены.
 3. Имеет отношение к понятию «клонирование лимфоцитов»
 4. Проявляется на этапе иммуногенеза.
 5. Проявляется на этапе реализации иммунного ответа Ответ: 1-5
14. Возможные источники антигенов для человека:
1. Микроорганизмы
 2. Животные.
 3. Растения.
 4. Синтетические продукты.
 5. Другие люди.
 6. Собственные ткани. Ответ: 1-5
15. Факторы, определяющие иммуногенность антигена:
- 1 Структурная чужеродность
 2. Молекулярная масса.
 3. Химическая природа.
 4. Способ введения.
 5. Дозировка.
 6. Адьювантное сопровождение. Ответ: 1-6
16. Свойства и функции антигена, связанные с эпитопами (антигенными детерминантами)
1. Иммуногенность.
 2. Специфичность.
 3. Комплементарность. Клоноспецифическим рецепторам лимфоцитов.
 4. Адьювантная активность.
 5. Активация антигенпредставляющих клеток. Ответ: 2,3
- 17 Свойства и функции антигена, связанные с носителем:
1. Специфичность (гуморальный иммунитет)
 2. Иммуногенность (геморальный иммунитет).
 3. Иммуногенность (клеточный иммунитет).
 4. Специфичность (Т-клеточный иммунитет).
 5. Адьювантная активность. Ответ: 2-5
18. Причина, по которой гаптены лишены иммуногенности:
1. Отсутствие чужеродности.
 2. Отсутствие эпитопа.
 3. Отсутствие носителя.
 4. Низкая молекулярная масса.
 5. Иммунологическая толерантность. Ответ: 3,4
19. Свойства гаптенных:
1. Иммуногенность.
 2. Чужеродность.
 3. Специфичность.
 4. способность связываться с преформированными антителами.
 5. Способность выполнять функцию эпитопов. Ответ: 2-5
20. Ситуации, в которых гаптены обретают иммуногенность:

1. Конъюгация с белковым носителем.
 2. Конъюгация с эпитопами.
 3. Комплексообразование с адьювантами.
 4. Процессинг в антигенпредставляющих клетках.
 5. Презентация молекулами МНС.
21. МНС-фенотип.
 1. Определяется полиморфизмом МНС-1.
 2. Определяется полиморфизмом МНС-2.
 3. Результат коэкспрессии двух гаплотипов. Ответ: 1,2,3.
 22. HLA-фенотип.
 1. Представлен различными классами молекул.
 2. Идентичность близких родственников.
 3. представлен аллоантигенами ядродержащих клеток.
 4. Отвечает за тканевую несовместимость.
 5. Имеет отношение к регуляции иммунного ответа. Ответ: 1,3-5
 23. Физиологические функции МНС:
 1. Представление антигенов Т-лимфоцитам.
 2. Функциональная кооперация клеток иммунной системы.
 3. Представление антигенов В- лимфоцитам.
 4. Тканевая несовместимость.
 5. Регуляция иммунного ответа. Ответ:1,2,5
 24. Положения., справедливые для молекул МНС-1.
 1. Присутствуют на всех ядродержащих клетках.
 2. Экспрессированы преимущественно на профессиональных антигенпредставляющих клетках.
 3. Представляют антигены CD 8 Т-лимфоцитам.
 4. Представляют антигены CD4 Т-лимфоцитам.
 5. Участвуют в Т-зависимости регуляции образования антител. Ответ:2,4,5
 25. Механизмы и понятия, связанные с МНС-рестрикцией иммунного ответа:
 1. Двойное распознавание антигенов В-лимфоцитами.
 2. Экспрессированы преимущественно на профессиональных антигенпредставляющих клетках.
 3. Представляют антигены CD 8 Т-лимфоцитам.
 4. Представляют антигены CD4 Т-лимфоцитам
 5. Участвуют в Т-зависимости регуляции образования антител. Ответ:2,4,5
 26. механизмы и понятия, связанные с МНС-рестрикцией иммунного ответа:
 1. Двойное распознавание антигенов В-лимфоцитами.
 2. МНС зависимое представление Т-эпитопов.
 3. Процессинг антигенов в В-лимфоциты. Ответ:2,5
 27. Участие МНС (HLA) в регуляции иммунного ответа определяют следующие факторы и механизмы:
 1. Избирательное связывание антигенных пептидов.
 2. Регуляция экспрессии МНС (HLA) на антигенпредставляющих клетках
 3. Полиморфизм МНС (HLA)
 4. МНС – I зависимое представление антигенов CD8 Т-лимфоцитам.
 5. МНС – II зависимое представление антигенов CD4 Т-лимфоцитам. Ответ 1-5

1. Тема 15 и ее актуальность:

«Иммунологический метод исследования»

Иммунопрофилактика предусматривает создание невосприимчивости к инфекционным заболеваниям введением в организм иммунопрепаратов. Удельный вес профилактической иммунизации в системе противоэпидемических мероприятий определяется легкостью и активностью механизма передачи возбудителя инфекции, частотой манифестных форм, тяжестью и исходами заболеваний, наличием эффективного и безвредного препарата.

2. Цель занятия:

2.1. Студент должен на основе полученных данных знать прививочные материалы, сроки вакцинации и ревакцинации при различных инфекционных заболеваниях.

Для достижения данной цели студент должен знать:

- Препараты для активной иммунизации,
- Препараты для пассивной иммунизации
- Показания к проведению профилактической иммунизации
- Общие противопоказания к проведению профилактических прививок
- Условия, необходимые для достижения эффективности иммунопрофилактики
- Оценку эпидемиологической эффективности иммунопрофилактики
- изучение аллергии
 - условия формирования аллергии
 - особенности проявления инфекционной аллергии
 - диагностических препаратов для выявления аллергии

Формирование компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки

- Принципы иммунопрофилактики и иммунотерапии.
- Вакцины (живые, убитые, анатоксины, химические, синтетические, субъединичные, генноинженерные, ассоциированные, комбинированные). Принципы получения, механизм действия, преимущества, недостатки. Адьюванты.
- Плановые профилактические прививки, методы оценки поствакцинального иммунитета (РПГА при дифтерии, реакция Манту и др.)
- Лечебно-профилактические сыворотки (антибактериальные, антитоксические, противовирусные, моноклональные, монорецепторные), механизм действия, методы получения, титрование.
- Иммуноглобулины, классификация, методы получения, механизм действия, преимущества, недостатки.
- Поствакцинальные осложнения.
- Аллергия, аллергические реакции

. Вид занятия практическое занятие

5. Продолжительность 3 часа

6. Оснащение: таблицы, готовые биологические медицинские препараты среды, схемы.

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений

Задания для самоконтроля

Тестовые задания

А- антибиотики

Б- вакцины

В- асептики

Г- витамины

2. К биологическим медпрепаратам группы А относятся:

- А- вакцины и сыворотки
- Б- вакцины и анатоксины
- В- бактериофаги и интерфероны
- Г-сыворотки и иммуноглобулины

3. Гаммаглобулины бывают:

- А- гетерогенные и гомологичные
- Б-антитоксичные
- В- антибактериальные
- Г-антивирусные

4. Сроки вакцинации и ревакцинации от дифтерии:

- А-3 мес.;4,5 мес;6 мес.
- Б- 3 мес, 4,5мес, 9 мес.
- В-3 мес,6 мес,9 мес.
- Г-3 мес,9 мес,1,5 лет.

5. Какие вакцины вводятся первые три месяца от рождения

- А-полмиелита
- Б- туберкулеза
- В- столбняка
- Г-кори

6. Иммунопрепараты для плановой иммунизации детей:

- А- бруцеллезная вакцина
- Б-сибироязвенная вакцина
- В- АКДС
- Г- БЦЖ

7. Антитоксическими лечебно –профилактическими сыворотками являются:

- А-противоботулинтстическая
- Б-противолептоспирозная Ситуационные задачи:

1). Двухлетний ребенок с положительной реакцией Манту заболел корью. Через 2 недели после выздоровления у него появилась субфебрильная температура, общее недомогание. Повторная р. Манту оказалась отрицательной.

а) Как объяснить исчезновение аллергической чувствительности к туберкулину у ребенка?

б) Выяснить состояние аллергии и иммунитета при туберкулезе.

в) Определить значение реактивности организма в формировании защитных реакций организма при инфекции.

2). У матери и ее трехлетнего ребенка, не подвергшегося ревакцинации, была поставлена реакция Манту. У обоих она оказалась положительной. Клиническое и рентгенологическое обследование показало, что мать здорова.

а) Как объяснить положительную реакцию Манту у матери и ее ребенка?

б) Определить диагностическую ценность реакции Манту.

3). В туберкулезном диспансере при лабораторном обследовании семьи, состоящей из девочки 5 лет и матери, обнаружено следующее: у девочки – положительная реакция

манту, микроскопия мокроты и посев ее дали отрицательные результаты. У матери обнаружены туберкулезные палочки только в посеве мокроты.

- а) У кого из них лабораторно подтверждается диагноз туберкулеза?
- б) Определить диагностическую ценность р. Манту.

4). Имеется набор диагностических препаратов: ППД-Л, бруцеллин, тулярин, антраксин.

а) Выберите из имеющегося набора препаратов для постановки кожно-аллергических проб.

б) Обоснуйте показания их по форме:

Название препарата	Состав	Цель применения
--------------------	--------	-----------------

Эталоны ответов:

1). Корь резко снижает реактивность организма.

На этом фоне аллергическая реакция становится отрицательной.

Развивается состояние так называемой отрицательной аллергии.

2). Положительная р. Манту у матери является следствием контакта организма с туберкулезными бактериями. У ребенка положительная реакция могла быть следствием вакцинации. Не следует учесть и возможность заболевания. Для подтверждения необходимо провести дополнительные исследования.

3) Подтверждается диагноз туберкулеза у матери ребенка. Положительная реакция у девочки может быть следствием инфицирования туберкулезными палочками, т.к. все условия к этому в семье имелись или следствием вакцинации. Поэтому, чтобы исключить заболевание, необходимо

клиническое и рентгенологическое обследование ребенка, а также выяснить сроки вакцинации или последней ревакцинации вакциной БЦЖ.

№	Название препарата	Состав	Цель применения
1	ППД-Л (очищенный туберкулин)	Очищенный белок МБТ	Выявление инфицированных лиц, отбор контингентов для ревакцинации БЦЖ (постановка пробы Манту и Пирке)
2	Бруцеллин	Фильтрат бульонной культуры бруцелл	Для диагностики бруцеллеза (р.Бюрне)
3	Тулярин	Убитые палочки туляремии	Для диагностики туляремии
4	Антраксин	Очищенный сибирезвенный аллерген	Для диагностики сибирской язвы

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия:

Аллергия – повышенная иммунологическая реактивность, выражающаяся в гиперпродукции антител определенных классов, сенсibilизированных лимфоцитов, их медиаторов, что может привести к повреждению тканей или гибели организма. Различают два типа аллергии: гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) и гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ).

Повышенная чувствительность к аллергенам патогенных микроорганизмов и продуктам их жизнедеятельности называется инфекционной аллергией, которая играет важную роль в патогенезе таких заболеваний, как туберкулез, лепра, бруцеллез, туляремия и др. Специфичность инфекционных аллергических реакций дает возможность использовать их для диагностики инфекционных заболеваний. Знание механизмов развития аллергии облегчит изучение патогенетических механизмов инфекционных, аутоиммунных, атопических заболеваний, трансплантационного иммунитета на старших курсах.

7.3. Демонстрация преподавателем методики практических приемов по данной теме.

7.4. Самостоятельная работа студентов под руководством преподавателя в лаборатории. Обобщение темы. Подведение итогов

7.5. Проверка усвоения знаний-умений.

Тестовый контроль

Тесты I типа. Для каждого вопроса выберите один наиболее правильный ответ.

1. К какому классу иммуноглобулинов относятся кожно-сенсibiliзирующие антитела:

A. IgG

B. IgM

C. IgA

D. IgE?

Ответ: D

2. Какие антитела обнаруживаются в крови при анафилактическом шоке:

A. IgG

B. IgM

C. IgA

D. IgE?

Ответ: A

3. Назовите сроки проявления ГНТ к аллергену:

A. Несколько минут

B. Через 24 часа

C. Через 72 часа

D. Через 12 часов

E. Не ранее 6-8 часов

ответ: A

4. Назовите сроки проявления ГЗТ к аллергену:

A. Несколько минут

B. Через 24 часа

C. Через 72 часа

D. Через 12 часов

E. Не ранее 6 часов

ответ: E

Тесты 2 типа. Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован несколько раз.

1. Назовите основные клинические проявления реакций гиперчувствительности:

- 1) ГНТ А. Анафилаксия
 В. Сывороточная болезнь
- 2) ГЗТ С. Туберкулез
 D. Бруцеллез
 Е. Астма
 F. Туляремия

Ответы: 1- А, В, Е 2- С, D, F

2. Назовите аллергены реакций гиперчувствительности:

- 1) ГНТ А. Бактерии
 В. Трансплантационные антигены
- 2) ГЗТ С. Грибы
 D. Растворимые антигены
 Е. Пыльца растений
 F. Вирусы

Ответы: 1- D, Е 2- А, В, С, F

3. Назовите наличие антител в крови при реакциях гиперчувствительности:

- 1) ГНТ А. Отсутствуют
 В. Присутствуют
- 2) ГЗТ С. Не играют роли
 D. Присутствуют IgA
 Е. Присутствуют IgE

Ответы: 1- В, Е 2- А, С

Тесты 3 типа. Для каждого вопроса один или несколько ответов являются правильными. Выберите ответ:

- А – если правильная комбинация 1, 2, 3
В – если правильная комбинация 1 и 3
С – если правильное сочетание 2 и 4
D – если верно только 4
Е – если все ответы правильны

1. Назовите стадии реакции гиперчувствительности:

1. Иммунологическая
2. Патохимическая
3. Патофизиологическая
4. Биологическая
5. Патологическая

Ответ: А

2. Какие лимфоциты играют главную роль при реакциях гиперчувствительности:

1. В-лимфоциты
2. В-лимфоциты
3. Т-хелперы
4. Сенсibilизированные Т-лимфоциты
5. Т₁-лимфоциты?

Ответ: С

3. Дайте определение инфекционной аллергии: повышенная чувствительность к:

1. Аллергенам микроорганизмов
2. Сывороточным аллергенам
3. Грибам
4. Пыльце растений
5. Пищевым аллергенам

Ответ: В

4. Какие кожно-аллергические пробы применяются для выявления инфекционной аллергии:

1. р. Манту
2. р. Бюрне
3. р. с тулярином
4. р. с антраксином
5. р. с кандидозным аллергеном?

Ответ: Е

5. Назовите в целях профилактики развития каких аллергических реакций применяется метод десенсибилизации по Безредке:

1. Атопических реакций
2. Бронхиальной астмы
3. Крапивницы
4. Анафилактического шока
5. Пищевой аллергии?

Ответ: D

Тесты 4 типа. Определить:

1. Верно или неверно каждое из приведенных утверждений
2. Если верны оба утверждения, имеется ли между ними причинная зависимость.

Выберите ответ, используя приведенную ниже схему:

Ответ	Утверждение 1	Утверждение 2	Связь
A	Верно	Верно	Верно
B	Верно	Верно	Неверно
C	Верно	Неверно	Неверно
D	Неверно	Верно	Неверно
E	Неверно	Неверно	Неверно

1. Бактериальные аллергены не способны вызвать аллергические реакции замедленного типа анафилактического шока, потому что нет четкой зависимости между видом аллергена и характером аллергической реакции.

Ответ: D

2. Аллергические реакции следует считать такой же частью иммунного ответа, потому что реакции повышенной чувствительности играют роль в защите от патогенных возбудителей.

Ответ: A

3. Значительно чаще возникают заболевания туберкулезом среди вакцинированных людей, потому что введение БЦЖ не сопровождается обязательным развитием иммунных реакций и туберкулезной аллергии.

Ответ: E

4. Деление аллергических реакций на реакции немедленного и замедленного типов условное, потому что в организме обычно возникают оба вида гиперчувствительности.

Ситуационные задачи

Ответ: A

1. Выбрать методы для оценки степени сенсибилизации у человека, длительно болеющего бруцеллезом.

2. Выбрать методы для оценки напряженности анитоксического иммунитета у детей, контактировавших с больным скарлатиной.

3. Выбрать методы оценки специфической сенсибилизации организма к туберкулезным бактериям.

4. Какие контингенты лиц подлежат ревакцинации вакциной БЦЖ?

5. Обоснуйте применение антигистаминных препаратов с целью десенсибилизации.

6. Какое можно сделать заключение, если на месте введения бруцеллина у человека через 48 часов появляются покраснение, припухлость и болезненность?

1. Тема 16.

Иммунобиологические препараты. Контрольная работа по темам 14-16

2. Учебная цель: Контроль усвоения знаний по разделу «Иммунология»

Проверка формирования у обучающихся компетенций УК 8 (УК 8.2), ОПК 1 (ОПК 1.1, ОПК 1.2, ОПК 1.3), ОПК 2 (ОПК 2.1, ОПК 2.2), ОПК 3 (ОПК 3.3)

3. Материал для самоподготовки к освоению данной темы.

Вопросы для самоподготовки:

1. Понятие об иммунитете
2. Виды иммунитета
3. Неспецифический иммунитет. Факторы защиты
4. Специфический иммунитет. Факторы защиты
5. Иммунобиологические методы исследования
6. Против инфекционный иммунитет
7. Иммунобиологические препараты

4. Вид занятия практическое занятие

5. Продолжительность 3 часа

6. Оснащение: билеты с вопросами по темам раздела

Контрольные вопросы по разделу «Иммунитет»

1. Современное определение понятия «иммунитет». Виды иммунитета, их основные отличия.
2. Неспецифические факторы иммунитета: механические, физико-химические, клеточные и гуморальные.
3. Фагоцитоз; фагоцитирующие клетки; основные стадии фагоцитоза; завершённый и незавершённый фагоцитоз.
4. Система комплемента, пути активации.
5. Роль комплемента в хемотаксисе, опсонизации микробов, развитии аллергических и иммунопатологических процессов.
6. Интерфероны; классификация; иммуно - биологическое значение.
7. Пропердиновая система.
8. Иммунная система организма человека. Центральные и периферические органы.
9. Основные клетки иммунной системы: А-клетки, Т- и В- лимфоциты, их субпопуляции. Нулевые клетки.
10. Антигены: классификация, свойства. Антигены бактерий, вирусов, человека
11. Антитела, классы иммуноглобулинов, структурные и функциональные особенности.
12. Активные центры иммуноглобулинов, их функция.

13. Антигенное строение иммуноглобулинов: изо-, ало-, идиотипические детерминанты. Неполные антитела, аутоантитела.
14. Динамика образования антител, первичный и вторичный иммунный ответ.
15. Защитная роль антител в противоинфекционном иммунитете.
16. Характеристика реакций антиген- антитело. Механизм, стадии, компоненты.
17. Применение для диагностики инфекционных заболеваний. Диагностические иммунные сыворотки, диагностикумы.
18. Иммунологическая память. Способы индукции, механизм.
19. Роль иммунологической памяти в защите организма от инфекции.
20. Использование феномена иммунологической памяти в диагностике и профилактике инфекционных болезней.
21. Серологическая диагностика инфекционных заболеваний (Реакции агглютинации Видаля, Райта, Вейгля и др.).
22. Критерии серодиагностики: диагностический титр, нарастание титра антител. Отличие истинной от анамнестической реакции. Определение периода болезни.
23. Иммунный фагоцитоз.
24. Киллерная функция клеток: Т-киллеры, Т-киллеры-индукторы апоптоза клеток, В-киллеры и др.
25. Цитокины, классификация, их роль в иммунном ответе
26. Взаимодействие (кооперация) между Т-, В-, А-клетками в иммунном ответе.
27. Иммунный ответ на тимусзависимые и тимуснезависимые антигены
28. Реакция агглютинации, компоненты, механизм, способы постановки, применение
29. Реакция преципитации (РП), компоненты, способы постановки, механизм, применение.
30. Аллергия. Аллергические реакции.
31. Иммунологическая толерантность. Способы индукции, механизм.
32. Реакция гемолиза, компоненты, методы их получения, механизм, применение.
33. Реакция связывания комплемента (РСК), компоненты, методы получения, механизм, применение.
34. Местный иммунитет, механизмы.

35. Особенности антибактериального, антитоксического, противовирусного иммунитета.
36. РИФ, ИФА, РИА, реакция иммуноблотинга, компоненты, методы их получения, способы постановки, применение.
37. Реакции нейтрализации (РН) токсинов, механизм, назначение, способы постановки.
38. Реакции флоккуляции, компоненты, способы получения, механизм, назначение.
39. Реакции нейтрализации токсинов на лабораторных животных,
40. Реакции нейтрализации вирусов, назначение, механизм, способы постановки.
41. Реакции нейтрализации вирусов в культуре ткани, компоненты, механизм, назначение.
42. Реакция нейтрализации вирусов в развивающихся куриных эмбрионах, компоненты, механизм, назначение.
43. Реакция нейтрализации вирусов на лабораторных животных, компоненты, механизм, назначение.
44. Принципы иммунопрофилактики и иммунотерапии.
45. Вакцины (живые, убитые, анатоксины, химические, синтетические, субъединичные, генноинженерные, ассоциированные, комбинированные).
46. Принципы получения, механизм действия, преимущества, недостатки. Адъюванты.
47. Плановые профилактические прививки, методы оценки поствакцинального иммунитета (РПГА при дифтерии, реакция Манту и др.)
48. Лечебно-профилактические сыворотки (антибактериальные, антитоксические, противовирусные, моноклональные, монорецепторные), механизм действия, методы получения, титрование.
49. Иммуноглобулины, классификация, методы получения, механизм действия, преимущества, недостатки.
50. Поствакцинальные осложнения.

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения учебной дисциплины (модуля)

Основная литература	
Зверев, В. В. Микробиология, вирусология : учеб. пособие / под ред. Зверева В. В. , Бойченко М. Н. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. - 368 с. - ISBN 978-5-9704-5205-9. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970452059.html  (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Зверева, В. В. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : Т. 1 : учебник / ред. Зверева В. В. , Бойченко М. Н. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 448 с. - ISBN 978-5-9704-5835-8. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970458358.html  (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Зверева, В. В. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : Т. 2 : учебник / под ред. Зверева В. В. , Бойченко М. Н. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 472 с. - ISBN 978-5-9704-5836-5. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970458365.html  (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учебник в 2 томах : Т. 1 / под ред.: В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-МЕДИА, 2021. - 446 с.	204
Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учебник в 2 томах : Т. 2 / под ред.: В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-МЕДИА, 2021. - 468 с.	203
Медицинская микробиология, вирусология и иммунология [Текст] : учебник / под ред. А. А. Воробьева. - 2-е изд., испр. и доп. - М. : МИА, 2012. - 702 с.	821
Дополнительная литература	
Зверев, В. В. Микробиология, вирусология : руководство к практическим занятиям : учеб. пособие / Зверев В. В. [и др.]; под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 360 с. - ISBN 978-5-9704-4006-3. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970440063.html  (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Иммунодиагностические реакции [Текст] : учеб. пособие / ГБОУ ВПО "Баш. гос. мед. ун-т" Минздрава России ; сост. Г. К. Давлетшина [и др.]. - Уфа, 2016. - 83 с. : рис.	100
Иммунодиагностические реакции [Электронный ресурс] : учеб. пособие / ГБОУ ВПО "Баш. гос. мед. ун-т" Минздрава России ; сост. Г. К. Давлетшина [и др.]. - Электрон. текстовые дан. - Уфа, 2016. - Текст: электронный // БД «Электронная учебная библиотека». – URL: http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib617.1.pdf	Неограниченный доступ
Левинсон, Уоррен. Медицинская микробиология и иммунология [Текст] : [учебное издание] / У. Левинсон ; пер.: К. А. Луста, А. А. Митрохин ; ред. В. Б. Белобородов. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. - 1181 с. : ил.	30
Микробиология, вирусология и иммунология : руководство к лабораторным занятиям : учеб. пособие / под ред.: В. Б. Сбойчакова, М. М. Карапаца. - М. : Гэотар Медиа, 2014. - 320 с.	890
Сбойчаков, В. Б. Микробиология, вирусология и иммунология : руководство к лабораторным занятиям / под ред. В. Б. Сбойчакова, М. М. Карапаца - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 320 с. - ISBN 978-5-9704-3066-8. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970430668.html  (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ

Сборник ситуационных задач по дисциплине "Микробиология, вирусология" [Текст] / ФГБОУ ВО «Баш. гос. мед. ун-т» МЗ РФ; сост. Г. К. Давлетшина [и др.]. - Уфа, 2018. - 131,[1] с. : ил.	210
Сборник ситуационных задач по дисциплине "Микробиология, вирусология" [Электронный ресурс] / ФГБОУ ВО «Баш. гос. мед. ун-т» МЗ РФ; сост. Г. К. Давлетшина [и др.]. - Электрон. текстовые дан. - Уфа, 2018. – Текст: электронный // БД «Электронная учебная библиотека». – URL: http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib686.1.pdf	Неограниченный доступ
Условно-патогенные грамотрицательные и грамположительные бактерии [Электронный ресурс] : учеб. пособие / ГБОУ ВПО "БГМУ" МЗ РФ ; сост. З. Г. Габидуллин [и др.]. - Электрон. текстовые дан. - Уфа, 2014. - Текст: электронный // БД «Электронная учебная библиотека». – URL: http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib548.pdf	Неограниченный доступ
Санитарно-микробиологические исследования объектов окружающей среды [Электронный ресурс] : метод. рекомендации / ГОУ ВПО "Баш. гос. мед. ун-т" ; сост.: Р. Ф. Хуснаризанова, Р. Ф. Насырова ; под ред. З. Г. Габидуллина. - Электрон. текстовые дан. - Уфа, 2010. - Текст: электронный // БД «Электронная учебная библиотека». – URL: http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib340.doc .	Неограниченный доступ
Генералов И. И. Основы иммунологии : учебное пособие / И. И. Генералов, Д. К. Новиков, Н. В. Железняк. - Витебск : ВГМУ, 2020. - 219 с. - ISBN 9789854669847. - Текст : электронный // ЭБС "Букап" : [сайт]. - URL : https://www.books-up.ru/ru/book/osnovy-immunologii-5090326/ (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Муштоватова Л. С. Практикум по частной микробиологии / Л. С. Муштоватова. - т : Издательство СибГМУ, 2020. - 200 с. - Текст : электронный // ЭБС "Букап" : [сайт]. - URL : https://www.books-up.ru/ru/book/praktikum-po-chastnoj-mikrobiologii-10237547/ (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ
Чапаева Н. Н. Современные представления об антифосфолипидном синдроме : учебное пособие / Н. Н. Чапаева, А. А. Демин, И. О. Маринкин. - Новосибирск : НГМУ, 2019. - 125 с. - Текст : электронный // ЭБС "Букап" : [сайт]. - URL : https://www.books-up.ru/ru/book/sovremennye-predstavleniya-ob-antifosfolipidnom-sindrome-11818664/ (дата обращения: 01.02.2023).	Неограниченный доступ

Подпись авторов методической разработки

« ___ » _____ 20 г.