

Высшее государственное учебное заведение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия»
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

ПОСОБИЕ
к практическим занятиям
по микробиологии, вирусологии и иммунологии
для студентов стоматологического факультета
часть I

студента(ки) стоматологического факультета

II курса _____ группы

Полтава 2007

Пособие для практических занятий по микробиологии, вирусологии и иммунологии, составленный авторским коллективом:

1. ЛОБАНЬ Галина Андреевна - заведующая кафедры, д.м.н., профессор
2. ФЕДОРЧЕНКО Вера Ивановна – зауч кафедры, к.б.н., доцент
3. ЗВЯГОЛЬСЬКАЯ Ирина Николаевна – к.б.н., доцент
4. ПОЛЯНСЬКАЯ Валентина Павловна - к.б.н., доцент
5. КНЬШ Оксана Васильевна – преподаватель

Пособие для практических занятий по микробиологии, вирусологии и иммунологии рекомендовано Центральной методической комиссией Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия» от 17.04.03 (протокол №7) для аудиторной и внеаудиторной работы студентов по микробиологии, вирусологии и иммунологии. Он может быть использован для подготовки к практическим, итоговым занятиям, экзамену по предмету.

Пособие есть интеллектуальной собственностью и без письменного разрешения авторов не может быть скопированным и размноженным в полном объеме или частями, кроме рукописной формы. Авторские права защищены Законом Украины “Об авторском праве и сопредельном праве”.

СОТРУДНИКИ КАФЕДРЫ

1. ЛОБАНЬ Галина Андреевна - заведующая кафедры, д.м.н., профессор
2. ФЕДОРЧЕНКО Вера Ивановна – завуч кафедры, к.б.н., доцент
3. ЗВЯГОЛЬСКАЯ Ирина Николаевна - к.б.н; доцент
4. ПОЛЯНСКАЯ Валентина Павловна - к.б.н; доцент
5. КОСТИЧ Ольга Алексеевна - к.б.н., преподаватель
6. ГАНЧО Ольга Валериевна – к.б.н., преподаватель
7. КОВАЛЕНКО Нинель Павловна - к.б.н., преподаватель
8. КНЫШ Оксана Васильевна - преподаватель
9. ЗАЧЕПИЛО Светлана Викторовна – к.мед.н., преподаватель
10. КАНДЗЮБА Светлана Ивановна – старший лаборант
11. ВАНЖА Любовь Григорьевна - лаборант
12. БРЕЧКА Галина Валентиновна - препаратор
13. КИРИЙ Ирина Николаевна - препаратор

Литература для самостоятельной работы:

1. Пяткин К.Д., Кривошеин Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією: Підручник /Пер.з рос.- К.: Вища школа, 1992. - 431 с.
2. Коротяев А.Н., Бабичев С.П. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология.- Санкт-Петербург: Специальная литература, 2000.-545 с.
3. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней / Под ред. проф Кривошеина Ю. С.- К.: Вища школа, 1986.- 376 с.
4. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Борисова Л.Б.- М.: Медицина, 1984 - 255 с.
5. Медицинская микробиология / Гл. ред.В.И. Покровский, О.К. Поздеев - М.: Геотар Мед., 1998. - 1183 с.
6. Тимаков В.Д., Левашов В.С., Борисов Л.Б. Микробиология. - М.: Медицина, 1983. - 497 с.
7. Пяткин К.Д., Кривошеин Ю.С. Микробиология.-Г.: Медицина, 1981-512 с.
8. Лобань Г. А., Федорченко В. И., Мікробіологія, вірусологія та імунологія порожнини рота.- Полтава: Верстка, 2004.-123с.

В дальнейшем учебная литература к каждому занятию приводится под указанными номерами.

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1

Тема: Микробиологическая лаборатория: организация, оснащение, назначение. Методы микроскопического исследования. Бактериоскопический метод диагностики инфекционных заболеваний.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Предмет и задачи медицинской микробиологии. Значение микробиологии в деятельности врача.
2. Назначение, оснащение и организация работы микробиологической лаборатории.
3. Правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории.
4. Микроскопическое исследование микроорганизмов: иммерсионная, фазовоконтрастная, темнопольная, люминесцентная, электронная микроскопия.
5. Строение светового микроскопа.

6. Правила микроскопии в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в микробиологической лаборатории.
2. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

Литература:

- 1) с. 10-19; 2) с. 5-18; 3) с. 5-9; 4) с. 5-19; 5) с. 1-5; 113-120; 6) с. 7-21; 7) с. 4-18;

Правила работы с иммерсионным микроскопом

- I. 1. Работать с искусственным источником света.
 2. Использовать плоское зеркало.
 3. Диафрагму полностью открыть.
 4. Конденсор поднять в верхнее положение.
 5. На малом увеличении установить максимальное освещение.
- II. 1. Визуально оценить препарат.
 2. Нанести на препарат 1-2 капли иммерсионного масла.
 3. Положить препарат на предметный столик.
- III. 1. Револютером установить в рабочее положение иммерсионный объектив.
 2. Макровинтом опустить объектив до соприкосновения с покровным стеклом.
 3. Искать изображение препарата, медленно поднимая объектив макровинтом.
 4. Тонкую регулировку изображения выполнить с помощью микровинта.
- IV. 1. После окончания работы поднять объектив макровинтом.
 2. Поставить микроскоп на малое увеличение.

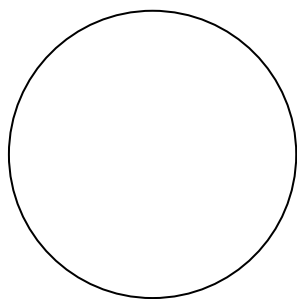
Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

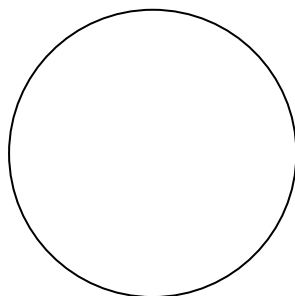
Задания № 1: Выучить правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории.

Задания № 2: Изучить строение светового микроскопа и освоить технику работы с иммерсионным объективом.

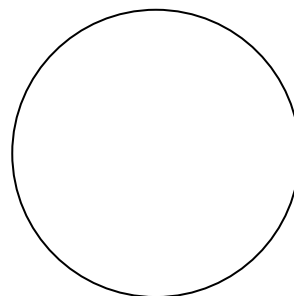
Задания № 3: Микроскопировать и зарисовать препараты: 1) стафилококки, 2) стрептококки, 3) монобактерии, 4) сарцины.



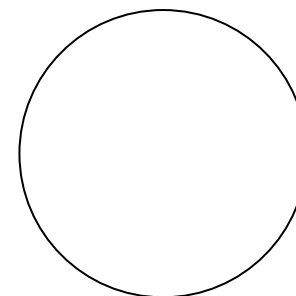
стафилококки



стрептококки



монобактерии



сарцины

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №2

Тема: Морфология и структура бактерий. Методы приготовления препаратов из культур бактерий и патологического материала. Простые методы окраски. Окраска бактерий по методу Грама.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Классификация микроорганизмов по форме, количеству и взаимному расположению клеток.
2. Структура бактериальной клетки. Клеточная стенка, периплазма, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, нуклеоид, рибосомы, мезосомы, плазмиды.
3. Химический состав и функции структурных компонентов бактериальной клетки.
4. Полиморфизм бактерий. Свойства L-форм бактерий.
5. Этапы приготовления препаратов для микроскопического исследования культур бактерий.
6. Этапы приготовления препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
7. Простые методы окраски, их методика.
8. Сложные методы окраски. Метод Грама.
9. Механизмы взаимодействия красителей со структурами бактериальной клетки.
10. Факторы, которые влияют на окраску бактерий по Граму.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Приготовление препаратов для микроскопического исследования.
2. Приготовление препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
3. Окраска препаратов простыми методами: водными растворами фуксина и метиленового синего.
4. Окраска препаратов сложным методом: окраска по Граму.
5. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
6. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.

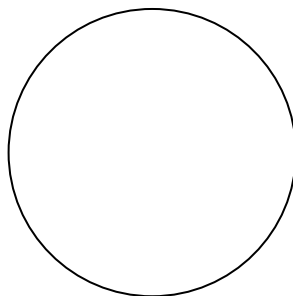
Литература:

- 1) с. 23-31; 2) с. 31-32, 33-40, 28-29; 3) с. 9-17; 4) с. 20-26; 5) с. 17, 19-25, 39-43, 113-114; 6) с. 27-38; 7) с. 23-32;

Протокол практического занятия

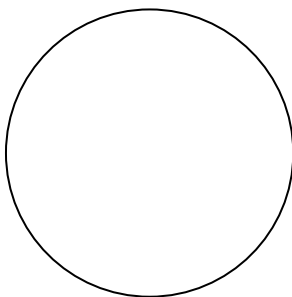
Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Приготовить препарат для микроскопического исследования культуры бактерий с плотной питательной среды. Окрасить водным раствором фуксина. Микроскопировать, зарисовать.



(назовите микроорганизмы с учетом их формы и взаимного расположения клеток)

Задания № 2: Приготовить мазок из микробной ассоциации бактерий, окрасить по методу Грама. Микроскопировать, зарисовать.



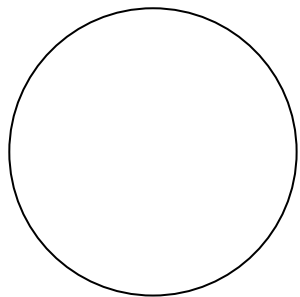
Этапы окраски по Граму (модификация Синева):

1. Раствор генцианвиолета – 2 мин. (фильтровальная бумажка, пропитанная красителем и высушенная).
2. Раствор Люголя – 1 мин.
3. Этиловый спирт-ректификат – 30 сек.
4. Промыть водой.
5. Фуксин Пфейффера – 2 мин.
6. Промыть водой, высушить.
7. Микроскопировать.

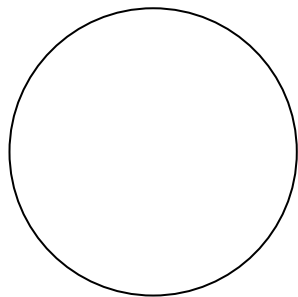
(назовите выявленные микроорганизмы с учетом формы, взаимного расположения клеток и тинкториальных свойств)

Задания № 3: Микроскопировать и зарисовать препараты, которые окрашены простыми и сложными методами:

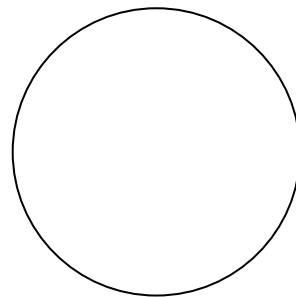
- 1) диплококки (окраска метиленовым синим),
- 2) вибрионы (окраска фуксином),
- 3) стрептобациллы (окраска по Граму),
- 4) кокки (окраска по Граму).



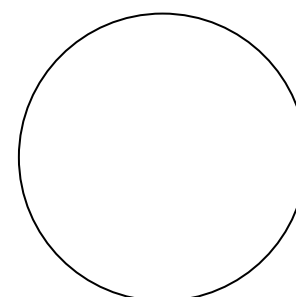
диплококки
(окраска метиленовым синим)



вибрионы
(окраска фуксином)



стрептобациллы
(окраска по Граму)



кокки
(окраска по Граму)

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3

Тема: Структура бактериальной клетки: включения, капсула, жгутики. Методы их выявления. Методы выявления спор и кислотоустойчивых бактерий.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Включения: химический состав, функции, практическое значение. Методы выявления включений.
2. Капсулы бактерий: строение, химический состав, функциональное значение. Методы выявления. Окраска по методу Гинса-Бурри.
3. Жгутики, реснички: строение, расположение на поверхности бактериальной клетки, функциональное значение. Методы выявления жгутиков. Окраска по методу Леффлера.
4. Выявление подвижности бактерий. Приготовление препаратов "висячая" капля и "раздавленная" капля.
5. Строение, химический состав, динамика образования спор, функциональное значение. Патогенные спорообразующие бактерии.
6. Факторы, которые обеспечивают высокую устойчивость микроорганизмов к действию факторов внешней среды.
7. Окраска спор по методу Ожешко и Пешкова.
8. Кислотоустойчивые бактерии, особенности их химического состава. Патогенные представители.
9. Метод окраски по Цилю-Нильсену.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Приготовление препаратов "раздавленная" капля и "висячая" капля для микроскопического исследования.
2. Приготовление препаратов для микроскопического исследования патологического материала (мокрота).
3. Окраска препаратов сложными методами (по Цилю-Нильсену).
4. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
5. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.

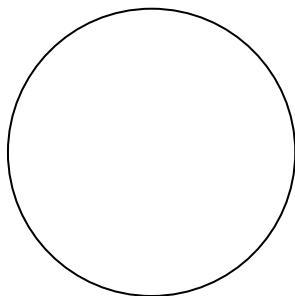
Литература:

1) с. 28-29; 31-35, 38, 274; 2) с. 40-45, 438; 3) с. 17-18, 20-25; 4) с. 23-24; 26-27; 36; 5) с. 17-19; 26; 38-38, 114-115, 502; 6) с. 29-31, 38-40, 347-348; 7) с. 29; 32-38, 343-344;

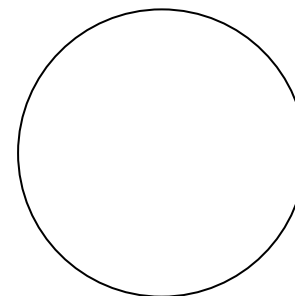
Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания №1: Микроскопировать и зарисовать зерна волютина в цитоплазме коринебактерий дифтерии.

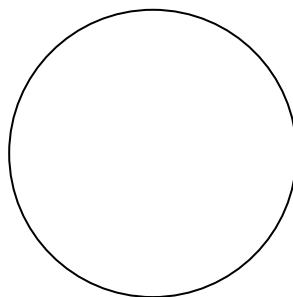


зерна волютина (окраска по Леффлеру)



зерна волютина (окраска по Нейссеру)

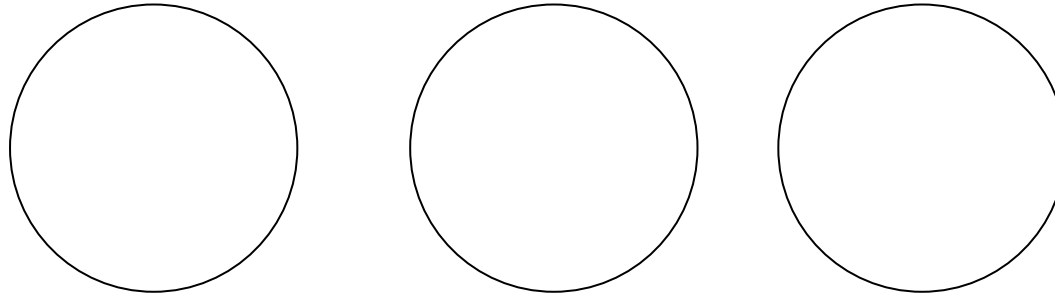
Задания № 2: Микроскопировать и зарисовать препарат капсульных бактерий.



капсулы бактерий (окраска по Гинсу-Бурри)

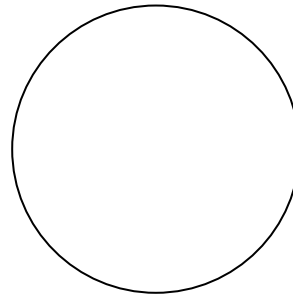
Задания № 3: Приготовить препарат "висячая" капля из односуточной культуры холероподобного вибриона. Микроскопировать, выявить подвижность бактерий.

Задания № 4: Микроскопировать и зарисовать препараты спорообразующих микроорганизмов, которые окрашены по методу Ожешко, Пешкова, Грама



(охарактеризуйте микроорганизмы по морфологическим признакам, укажите метод окраски)

Задания № 5: Приготовить препарат из мокроты больного, окрасить по Цилю-Нильсену. Микроскопировать, зарисовать.



кислотоустойчивые бактерии

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4

Тема: Морфология и структура спирохет, актиномицетов, грибов и простейших. Методы изучения их морфологии.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Классификация, морфология и структура спирохет. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
2. Классификация, морфология и структура грибов. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
3. Актиномицеты, морфология и структура. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
4. Классификация, морфология и структура простейших. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Приготовление препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
2. Окраска препаратов сложными методами (по Граму).
3. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
4. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.

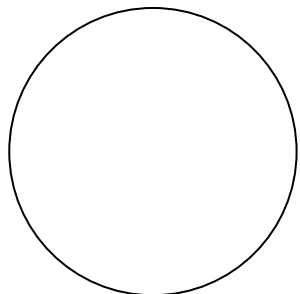
Литература:

1) с.283-286; 294; 391-392; 405-406; 413; 415; 419; 424; 2) с.477-480; 481-483; 485-486; 488-489; 491-494; 511-512; 3) с. 15-16; 18-19; 171-172; 177-178; 180-181; 252-254; 272-280; 4) с. 28-30; 249; 252-254; 5) с. 475-476; 485-486; 492; 851-855; 903-906; 6) с. 40-41; 440-445; 463; 354-358; 7) с.354- 359; 446-447;464; 476; 486;

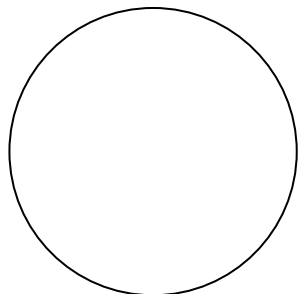
Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

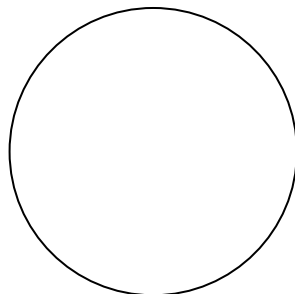
Задания № 1: Микроскопировать и зарисовать препараты грибов и актиномицетов.



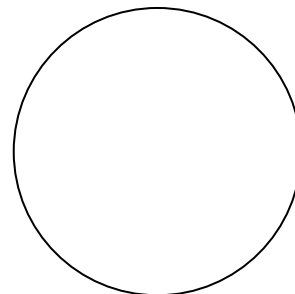
Плесневой гриб
рода Mucor



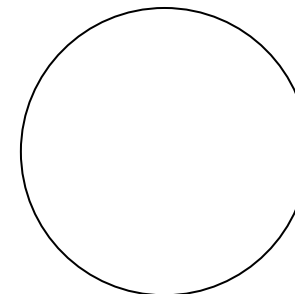
Плесневой гриб
рода Aspergillus



Плесневой гриб
рода Penicillium



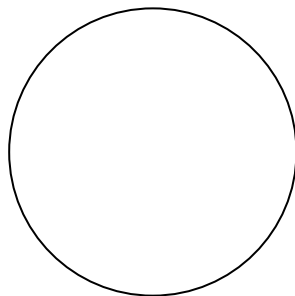
Дрожжеподибные грибы
рода Candida



Актиномицеты

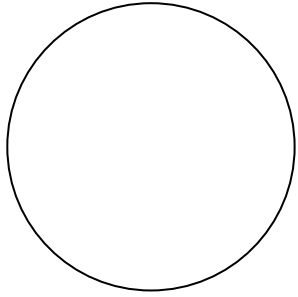
(охарактеризуйте микроорганизмы по морфологическим и тинкториальным свойствам)

Задания № 2: Приготовить препарат из зубного налета по методу Бурри. Микроскопировать и зарисовать.

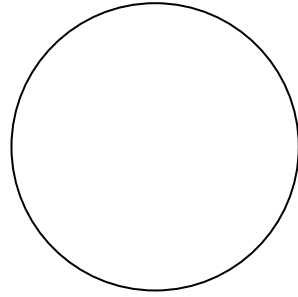


спирохеты в зубном налете

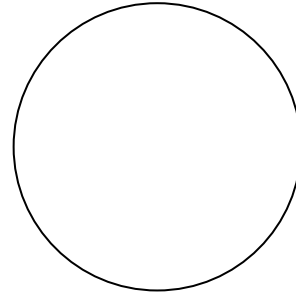
Задания № 3: Микроскопировать и зарисовать препараты простейших: 1) трипаносомы, 2) трихомонады, 3) лейшмании, 4) малярийный плазмодий.



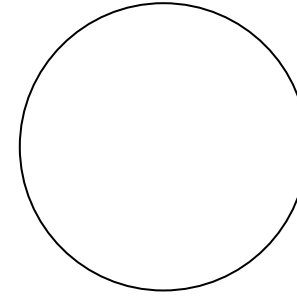
трипаносомы
(окраска по
Романовскому-Гимза)



трихомонады
(окраска
метиленовым синим)



лейшмании
(окраска по
Романовскому-Гимза)



малярийный плазмодий
(окраска по
Романовскому-Гимза)

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5

Тема: Морфология и структура риккетсий, хламидий, микоплазм и вирусов. Методы их выявления.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Классификация, морфология и структура риккетсий. Методы их выявления.
2. Хламидии и микоплазмы: морфология и структура. Методы их выявления.
3. Принципы классификации вирусов.
4. Морфология и структура вирусов. Типы симметрии нуклеокапсидов.
5. Химический состав вирусов. Ферменты вирусов, их роль.
6. Методы выявления вирусов.
7. Понятие о вироидах и прионах. Физико-химические свойства. Механизм образования

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

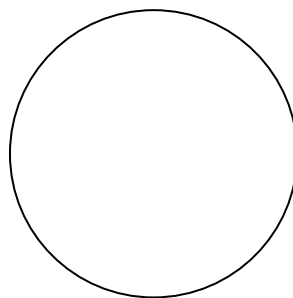
1. Определение наличия вирусов в культурах клеток и исследуемом материале.
2. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

Литература:

- 1) с. 38-40; 43-45; 316-317; 326-332; 2) с. 239 - 243; 247-250; 448;464-477 3) с. 18-19; 205-206; 4) с. 30-36; 5) с. 540-542; 659-661; 667-672; 6) с. 43-45; 72-79; 381-388; 7) с. 38-41; 45-46; 374-375;386-406.

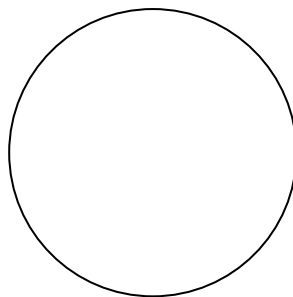
Протокол практического занятия
Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Микроскопировать и зарисовать риккетсии в препарате, который окрашен по Здродовскому.



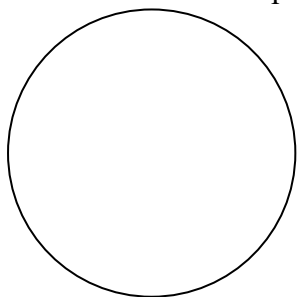
(охарактеризуйте микроорганизмы по морфологическим признакам)

Задания № 2: Микроскопировать и зарисовать включения хламидий в инфицированных клетках (окраска по Романовскому-Гимза).

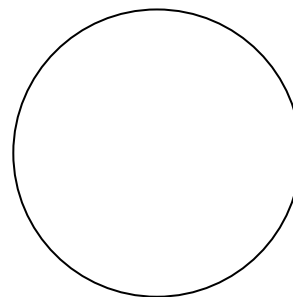


(обозначить инфицированные клетки)

Задания № 3: Микроскопировать и зарисовать включения в нервных клетках при бешенстве (тельца Бабеша- Негри) и в эпителиальных клетках при гриппе.



Включения в нервных клетках при бешенстве
(окраска по Туревичу)



Включение в эпителиальных клетках при гриппе
(окраска по Романовскому-Гимза)

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6

Тема: Морфология и структура микроорганизмов, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта.
Микроскопическое исследование в стоматологии.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень контрольных вопросов:

1. Кокковые формы бактерий, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта, их морфология и структура, тинкториальные свойства.
2. Палочковидные формы бактерий, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта, их морфология и структура, тинкториальные свойства.
3. Извитые формы бактерий, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта, их морфология и структура, тинкториальные свойства.
4. Нитчатые и ветвистые формы бактерий, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта, их морфология и структура, тинкториальные свойства.

5. Микроскопическое исследование в стоматологии.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.
2. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

Литература:

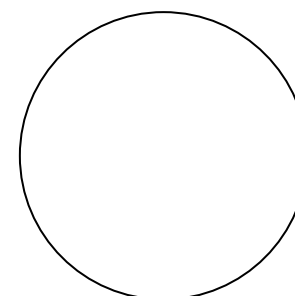
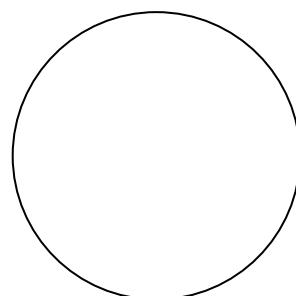
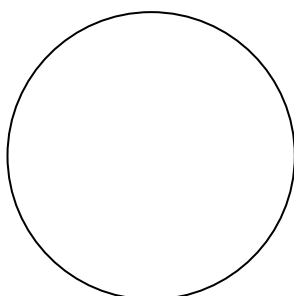
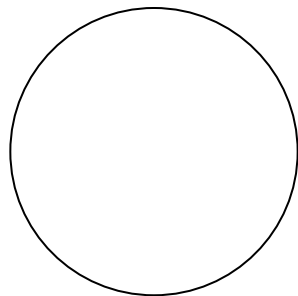
- 1) с. 425-427; 2) с. 530-536; 6) с. 489-490; 7) с. 488-490; 8) с. 20-25, 107-110.

Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Микроскопировать и зарисовать препараты бактерий, которые обнаруживаются в составе микрофлоры полости рта (окраска по Граму).

Коковые формы:



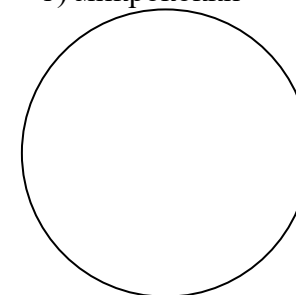
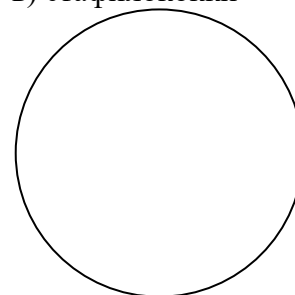
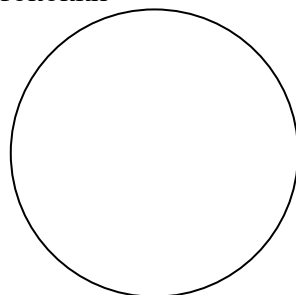
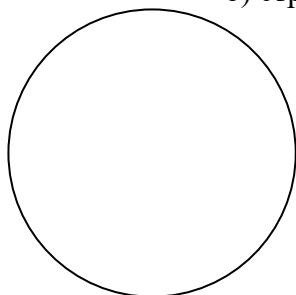
а) вейлонеллы

б) стрептококки

в) стафилококки

г) микрококки

Палочковидные:



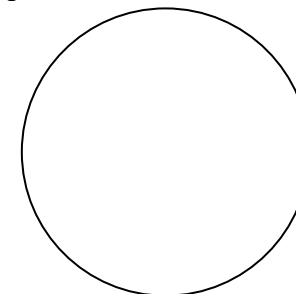
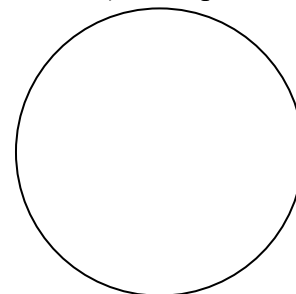
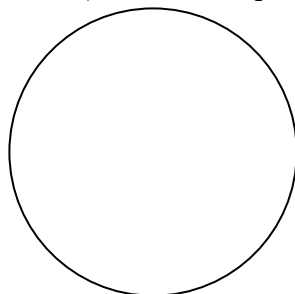
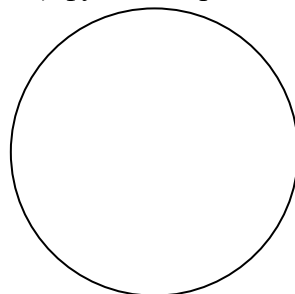
а) фузобактерии

б) лактобактерии

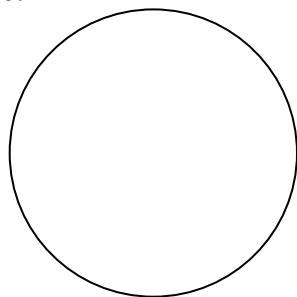
в) бактериоиды

г) превотелы

Извитые:



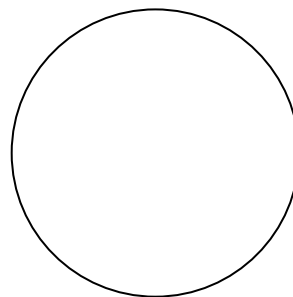
а) кампилобактерии
Нитчатые и разветвленные:



б) спирилы

в) спирохеты

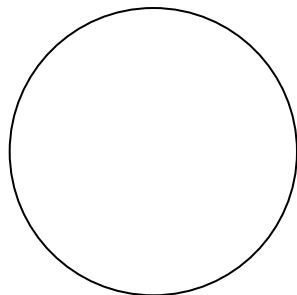
г) вибрионы



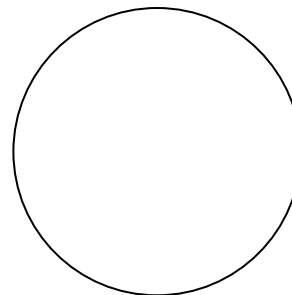
а) лептотрихи

б) актиномицеты

Задания № 2: Микроскопировать и зарисовать препараты грибов, которые обнаруживаются в составе микрофлоры полости рта (окраска по Граму).



а) дрожжи



б) дрожжеподобные грибы рода Candida

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7

Тема: Итоговое занятие "Морфология микроорганизмов".

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень контрольных вопросов:

1. Предмет и задачи медицинской микробиологии. Значение микробиологии в деятельности врача.
2. Назначение, оснащение и организация работы микробиологической лаборатории.
3. Правила работы и техника безопасности в микробиологической лаборатории.
4. Микроскопическое исследование микроорганизмов: иммерсионная, фазовоконтрастная, темнопольная, люминесцентная, электронная микроскопия.
5. Строение светового микроскопа.
6. Правила микроскопии в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
7. Классификация микроорганизмов по форме, количеству и взаимному расположению клеток.
8. Этапы приготовления препаратов для микроскопического исследования культур бактерий.
9. Этапы приготовления препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
10. Простые методы окраски, их методика.
11. Структура бактериальной клетки. Клеточная стенка, периплазма, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, нуклеоид, рибосомы, мезосомы, плазмиды.
12. Химический состав и функции структурных компонентов бактериальной клетки.

13. Полиморфизм бактерий. Свойства L-форм бактерий.
14. Сложные методы окраски. Метод Грама.
15. Механизмы взаимодействия красителей со структурами бактериальной клетки.
16. Факторы, которые влияют на окраску бактерий по Граму.
17. Включения: химический состав, функции, практическое значение. Методы выявления включений.
18. Капсулы бактерий: строение, химический состав, функциональное значение. Методы выявления. Окраска по методу Гинса-Бурри.
19. Жгутики, реснички: строение, расположение на поверхности бактериальной клетки, функциональное значение. Методы выявления жгутиков. Окраска по методу Леффлера.
20. Выявление подвижности бактерий. Приготовление препаратов "висячая" капля и "раздавленная" капля.
21. Строение, химический состав, динамика образования спор, функциональное значение. Патогенные спорообразующие бактерии.
22. Факторы, которые обеспечивают высокую устойчивость микроорганизмов к действию факторов внешней среды.
23. Окраска спор по методу Ожешко и Пешкова.
24. Кислотоустойчивые бактерии, особенности их химического состава. Патогенные представители.
25. Метод окраски по Цилю-Нильсену.

26. Классификация, морфология и структура спирохет. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
27. Классификация, морфология и структура грибов. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
28. Актиномицеты, морфология и структура. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
29. Классификация, морфология и структура простейших. Методы изучения их морфологии. Патогенные представители.
30. Классификация, морфология и структура риккетсий. Методы их выявления. Патогенные представители.
31. Хламидии и микоплазмы: морфология и структура. Методы их выявления.
32. Принципы классификации вирусов.
33. Морфология и структура вирусов. Типы симметрии нуклеокапсидов.
34. Химический состав вирусов. Ферменты вирусов, их роль.

35. Методы выявления вирусов.
36. Понятие о вириодах и прионах. Физико-химические свойства. Механизм образования.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо владеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в микробиологической лаборатории.
2. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
3. Приготовление препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
4. Окраска препаратов простыми методами: водными растворами фуксина и метиленового синего.
5. Окраска препаратов сложными методами: по Граму, Циллю-Нильсену, Леффлеру, Романовскому-Гимза.
6. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признаками.

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8

Тема: Культивирование бактерий, питательные среды. Методы стерилизации, дезинфекции. Методы выделения чистых культур аэробных бактерий (1-й этап исследования). Бактериологический (культуральный) метод диагностики инфекционных заболеваний.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Правила работы с бактериальными культурами и техники безопасности в бактериологической лаборатории.
2. Питание микроорганизмов, классификация по типу питания. Механизмы переноса питательных веществ в бактериальную клетку.
3. Культивирование бактерий. Питательные среды, классификация по назначению, консистенции, происхождению и количеству составных частей.
4. Стерилизация. Методы стерилизации, оценка стерилизации.
5. Асептика, антисептика, дезинфекция.
6. Бактериологический (культуральный) метод диагностики инфекционных заболеваний.
7. Смешанные и чистые культуры бактерий. Выделение чистых культур аэробных бактерий (1-й этап).

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противозидемического режима и техники безопасности в бактериологической лаборатории.

2. Обеззараживание инфицированного материала, антисептическая обработка рук, контаминированных исследуемым материалом или культурой микробов.
3. Приготовления препаратов для микроскопического исследования патологического материала.
4. Окраска препаратов сложным методом (по Граму).
5. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
6. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным свойствам.
6. Посев исследуемого материала тампоном, пипеткой и петлей на плотные, полужидкие и жидкие питательные среды.
7. Окраска препаратов сложными методами.
8. Уметь приготовить к стерилизации посуду, питательные среды.

Литература:

- 1) с. 46-48; 50-55; 64-68; 95-96; 2) с. 46-55; 78-80; 3) с. 25-26; 4) с. 36-52;
- 5) с. 23; 26-28; 34; 113; 120-122; 137-145; 6) с. 48-53; 69-71; 141-144; 7) с. 47-51; 54-58; 70-75.

Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

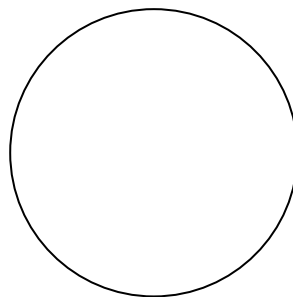
Задания № 1: Ознакомиться с аппаратурой, которая используется для стерилизации. Результаты занести в таблицу.

Вид стерилизации	Аппаратура	Режим стерилизации	Объекты, которые подлежат стерилизации	Результаты
Прожаривание	Пламя			
Кипячение	Стерилизатор			
Сухим жаром	Печь Пастера			
Паром под давлением	Автоклав			
Пастеризация	Водяная баня			
Тиндализация	Водяная баня			
Текучим паром	Аппарат Коха, автоклав			
Фильтрование	Фильтр Зейтца			
Ультрафиолетовыми лучами	Бактерицидная лампа			
Гамма-излучение	В производственных условиях			

Задания № 2: Ознакомиться с разновидностями питательных сред, которые применяют для культивирования бактерий. Результаты занести в таблицу, указать их вид и назначение.

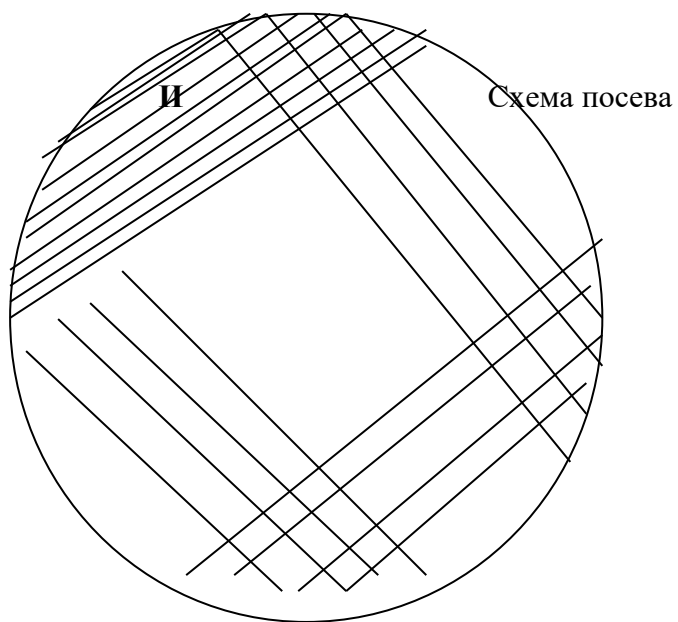
Вид питательной среды	Назначение	Примеры питательных сред
		МПБ, МПА
		Сахарный МПБ, сывороточный МПБ, кровяной МПА, асцитический МПА, среда Китта-Тароцци
		Среды Гисса, МПЖ, Эндо, Левина, Ресселя, Олькеницкого
		Желчный МПБ, щелочная пептонная вода, щелочной МПА, среды Аронсона, Плоскирева, кровно-теллуритовый агар
		Глицериновая смесь

Задания № 3: Приготовить препарат из патологического материала от больного катаральным стоматитом, окрасить по Граму, микроскопировать и зарисовать.



(охарактеризуйте микроорганизмы с учетом морфологических и тинкториальных свойств)

Задания № 4: Посеять патологический материал на чашку Петри с мясопептонным агаром (МПА) секторным методом (метод Голда) с целью получения изолированных колоний.



Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9

Тема: Выделение чистых культур аэробных бактерий (2-й этап исследования). Культуральные свойства бактерий.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Рост и размножение микроорганизмов. Вегетативные формы и формы покоя микробов.
2. Фазы размножения микробов в жидкой питательной среде в стационарных условиях.
3. Колонии, особенности их формирования у разных видов бактерий. Пигментообразование.
4. Выделение чистых культур аэробных бактерий (2-й этап исследования).

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в бактериологической лаборатории.

2. Посев патологического материала петлей на плотные питательные среды.
3. Обеззараживание инфицированного материала, антисептическая обработка рук, контаминированных исследуемым материалом или культурой микробов.
4. Приготовления препаратов для микроскопического исследования.
5. Окраска препаратов сложным методом (по Граму).
6. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
7. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.

Литература:

- 1) с.61-64; 59; 60; 67; 2) с.76-78; 80-83; 3) с.26-27; 4) с.50-54; 5) с.34-37; 61; 122-123; 6) с.63-69; 7) с. 64; 66-70; 73-74;

Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Ознакомиться с культуральными свойствами разных видов микроорганизмов:

- а) холерный вибрион в щелочной пептонной воде;
- б) стрептококк в сахарном мясо - пептонном бульоне(сахарный МПБ)
- в) лептоспиры в среде Уленгута;
- г) стафилококк в мясо-пептонном бульоне (МПБ).

Зарисовать и указать характер роста.

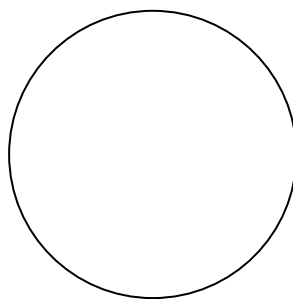


Задания № 2: Опишите культуральные свойства бактерий, учитывая характер роста изолированных колоний на плотной питательной среде (МПА) (заполните таблицу).

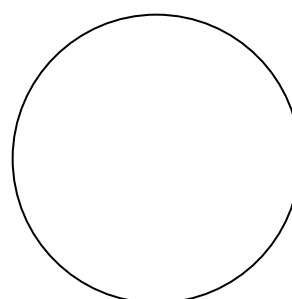
Культуральные свойства	Колония №1	Колония №2
Исследование в проходящем свете		
Размер (диаметр)		
Форма очертаний		
Степень прозрачности		
Исследование в отраженном свете		
Цвет колонии		
Характер поверхности		
Положение на питательной среде		
Микроскопическое исследование		
Характер края		
Структура		
Другие культуральные свойства		
Консистенция		

Задания № 3: Приготовить препараты из изолированных колоний № 1 и 2 которые, выделены от больного катаральным стоматитом, окрасить по Граму, микроскопировать и зарисовать.

колония № 1



колония № 2



(охарактеризуйте микроорганизмы с учетом морфологических и тинкториальных свойств)

Задания № 4: Пересеять изолированные колонии № 1 и № 2 на скошенный МПА с целью накопления чистых культур бактерий.

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10

Тема: Выделение чистых культур аэробных бактерий (3-й и 4-й этапы исследования).

Методы изучения ферментативной активности бактерий.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Ферменты бактерий и их классификация.
2. Методы изучения ферментативной активности бактерий и использование их для идентификации бактерий.
3. Дифференциально-диагностические питательные среды, их состав и назначение.
4. Способы идентификации выделенных культур. Понятие о сероварах, морфоварах, биоварах, фаговарах.
5. Современные методы идентификации бактерий с помощью автоматизированных ферментных систем идентификации.
6. Выделение чистых культур аэробов (3-й и 4-й этапы).

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в бактериологической лаборатории.
2. Обеззараживание инфицированного материала, антисептическая обработка рук, контаминированных исследуемым материалом или культурой микробов.
3. Приготовление препаратов для микроскопического исследования.
4. Окраска препаратов сложным методом (по Граму).
5. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом
6. Посев исследуемого материала петлей и пипеткой на плотные, полужидкие и жидкие питательные среды.
7. Выделение чистых культур аэробных микроорганизмов.

Литература:

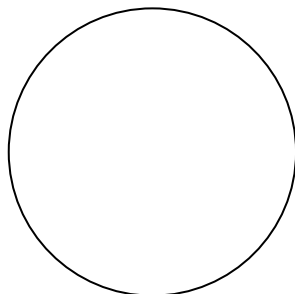
- 1) с. 49-50; 55-56; 66; 2) с.54-55; 3) с. 27-29; 4) с. 46-47; 52; 54-56; 5) с. 28-34; 121-123; 125; 6) с.53-56; 69-71; 7) с. 51-59; 72; 113-114.

Протокол практического занятия

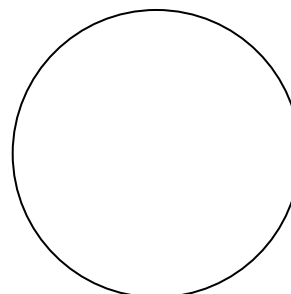
Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Приготовить препараты из чистых культур бактерий, выделенных от больного катаральным стоматитом, окрасить по Граму, микроскопировать и зарисовать.

Культура №1:



Культура №2:

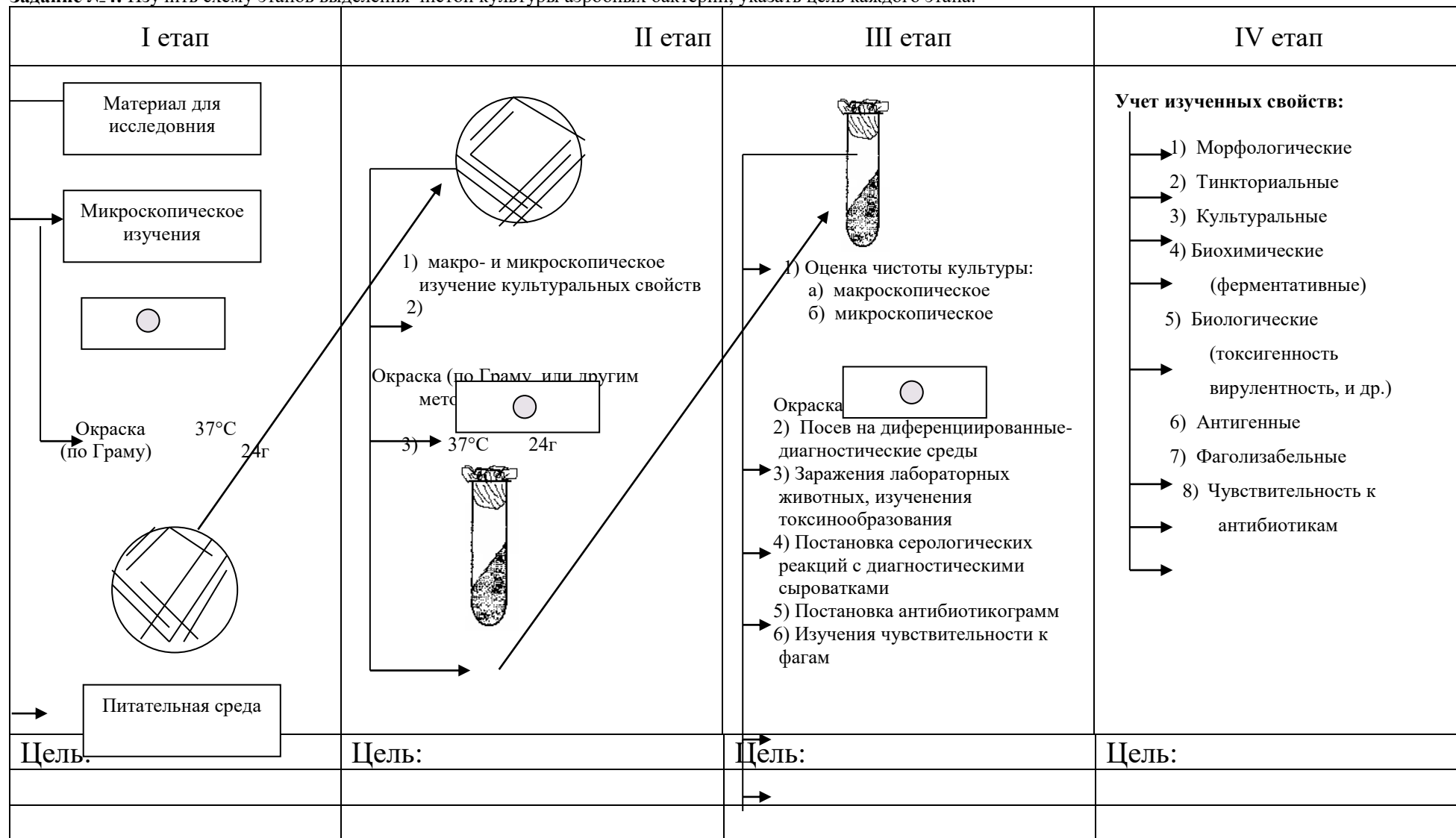


(охарактеризуйте микроорганизмы с учетом морфологических и тинкториальных свойств, оценка чистоты культуры)

Задания № 2: Пересеять чистые культуры в мясо-пептонный бульон, мясо-пептонную желатину, молоко и среды короткого пестрого ряда для изучения ферментативной активности бактерий.

Задания № 3: Посеять исследуемый материал из корневого канала от больного с апикальным периодонтитом в среду Китта-Тароцци.

Задание №4: Изучить схему этапов выделения чистой культуры аэробных бактерий, указать цель каждого этапа.



Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 11

Тема: Методы выделения чистых культур анаэробных бактерий (1-5 этапы исследования). Бактериологический метод исследования в стоматологии.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Дыхание микроорганизмов. Типы дыхания.
2. Способы создания анаэробных условий культивирования бактерий.
3. Питательные среды для культивирования анаэробов.
4. Выделение чистых культур анаэробных бактерий (1-5 этапы исследования).
5. Роль бактериологического метода исследования в дифференционной диагностике стоматологических заболеваний.
6. Особенности забора материала для бактериологического исследования в стоматологической практике (при кариесе, стоматите, периодонтите и др.).
7. Принципы подбора питательных сред для культивирования микроорганизмов – возбудителей стоматологических заболеваний.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в бактериологической лаборатории.
2. Обеззараживание инфицированного материала, антисептическая обработка рук, контаминированных исследуемым материалом или культурой микробов.
3. Приготовление препаратов для микроскопического исследования.
4. Окраска препаратов сложным методом (по Граму).
5. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.
6. Дифференциация микроорганизмов по морфологическим и тинкториальным признакам.
7. Посев исследуемого материала петлей и пипеткой на плотные, полужидкие и жидкие питательные среды.
8. Выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий, осуществление идентификации по морфологическими, тинкториальным, культуральным, ферментативным свойствам.

Литература:

- 1) с. 56-59; 2) с.66-72; 3) с.29-31; 4) с.52-56; 5) с. 28; 120-123; 28-30; 6) с. 56-62; 7) с. 59-64; 70-75; 8) с. 110-113.

Протокол практического занятия
Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Провести учет ферментативных свойств выделенных чистых культур аэробных бактерий.

Культура бактерий	Лактоза	Глюкоза	Сахароза	Мальтоза	Маннит	МПЖ	Молоко	Индол	H ₂ S
№1									
№2									

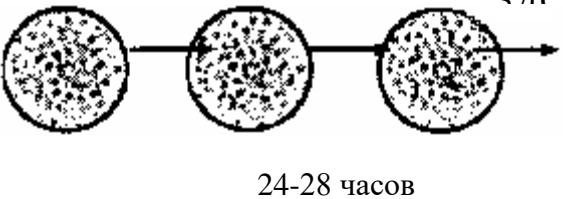
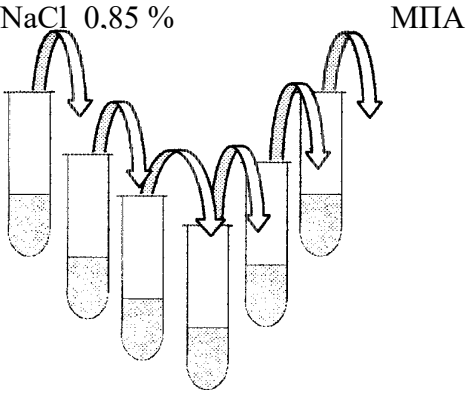
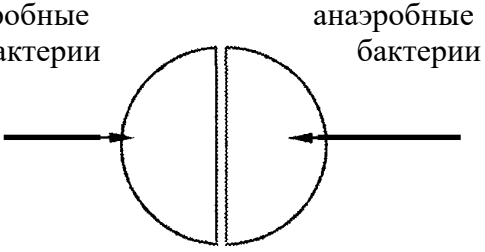
Заполните таблицу. Укажите характер расщепления углеводов (до кислоты – “К” или до кислоты и газа - “КГ”).

Задания № 2: Идентифицировать выделенные чистые культуры бактерий к роду по изученным свойствам.

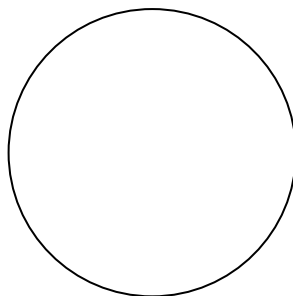
Свойства	Культура № 1	Культура № 2
Морфологические		
Тинкториальные		
Культуральные		
Ферментативные		
Вывод	Род	Род

Задания № 3: Ознакомиться с аппаратурой, которая используется для культивирования анаэробных бактерий.

Задания № 4: Выучить способы получения изолированных колоний анаэробных бактерий по Цейсслеру, Вейнбергу, Фортнеру. Указать название метода.

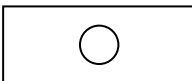


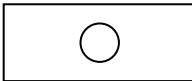
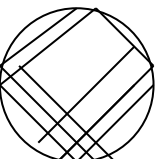

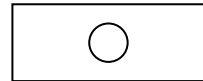


<p>1)</p>	<p>Метод: _____</p>  <p>24-28 часов</p>	<p>Последовательное распределение смеси бактерий стеклянным шпателем по поверхности кровяного сахарного агара в 3-х чашках Петри. Посев помещают в анаэроустат или другие приборы.</p>
<p>2)</p>	<p>Метод: _____</p>  <p>NaCl 0.85 % МПА</p>	<p>Культуру из среды берут пастеровской пипеткой с запаянным концом и последовательно переносят в 1-ю, 2-ю, 3-ю пробирки из 10 мл 0,85 % раствора хлорида натрия и в дальнейшем в 4-ю, 5-ю, 6-ю пробирки с расплавленным и охлажденным до 50°C м'ясо-пептонным агаром. Посевы ставят в термостат.</p>
<p>3)</p>	<p>Метод: _____</p>  <p>аэробные бактерии анаэробные бактерии</p>	<p>В питательной среде в чашке Петри вырезают полоску агара. На одну половину чашки сеют стандартную культуру аэробных бактерий, на другую – исследуемую культуру анаэробов. Чашку Петри закрывают, герметизируют расплавленным парафином и после его охлаждения ставят чашку в термостат.</p>

Задания № 5: Приготовить препарат из культуры бактерий, которые выросли в среде Китта-Тароцци, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.



(охарактеризуйте микроорганизмы с учетом морфологических и тинкториальных свойств)

Задание № 6: Изучить схему выделения чистой культуры анаэробных бактерий. Указать цель каждого этапа.

I	II	III	IV	V
<p>Материал для исследования</p> <p>1) Микроскопическое изучение</p>  <p>Окраска по (за Граму)</p> <p>Питательная среда (Среда Китта-Тароцци)</p> <p>37°C 24г</p> 	 <p>1) макроскопическое изучения 2) микроскопическое изучения</p>  <p>Окраска по Граму и другими методами 37°C 24г</p> 	 <p>1) макро- и микроскопическое изучение культуральных свойств</p>  <p>2) Окраска по Граму или другим методом 37°C 24г</p>  <p>3) Среда Китта-Тароцци</p>	 <p>1) Оценка чистоты культуры: а) макроскопически б) микроскопически</p> <p>2) Посев на дифференциально-диагностические среды</p> <p>3) Заражения лабораторных животных, изучения токсинообразования</p> <p>4) Постановка серологических реакций с диагностическими сыворотками</p> <p>5) Постановка антибиотикограммы</p> <p>6) Изучение чувствительности к фагам</p>	<p>Облік вивчених властивостей:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Морфологические 2) Тинкториальные 3) Культуральные 4) Биохимические (ферментативные) 5) Биологические (токсигенность, вирулентность, др.) 6) Антигенные 7) Фаголизабельные 8) Чувствительность к антибиотикам
Цель:	Цель:	Цель:	Цель:	Цель:

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12

Тема: Микробиологические основы антимикробной химиотерапии. Принципы антимикробной химиотерапии в стоматологии. Антибиотики. Бактериофаги.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Понятие о химиотерапевтических препаратах. Химиотерапевтический индекс.
2. Явление антагонизма у микробов. Антибиотики, определение, понятие.
3. Классификация антибиотиков по происхождению, спектру действия, характеру антимикробного действия и механизму действия.
4. Единицы измерения антимикробной активности антибиотиков.
5. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам: метод стандартных дисков и метод серийных разведений.
6. Применение химиотерапевтических препаратов при стоматологических заболеваниях: антибактериальные (в том числе антианаэробные и остеотропные), противгрибковые, противовирусные.
7. Осложнения антибиотикотерапии. Дисбактериозы и их профилактика.
8. Естественная и приобретенная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам. Генетические и биохимические механизмы антибиотикорезистентности. Роль плазмид и транспозонов в формировании лекарственной устойчивости у бактерий.

9. Пути предупреждения формирования резистентности у бактерий к антибиотикам. Принципы рациональной антибиотикотерапии.
10. Морфология, структура и химический состав бактериофагов.
11. Вирулентные и умеренные бактериофаги. Стадии продуктивного типа взаимодействия бактериофагов с бактериальными клетками.
12. Лизогения и фаговая конверсия.
13. Специфичность действия бактериофагов.
14. Практическое использование бактериофагов в микробиологии и медицине с целью идентификации бактерий, профилактики и терапии инфекционных заболеваний, оценки микробного загрязнения окружающей среды.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Определять чувствительность микроорганизмов к антибиотикам.
2. Уметь определять фаготип бактерий.
3. Определять чувствительность микроорганизмов к антибиотикам.

Литература:

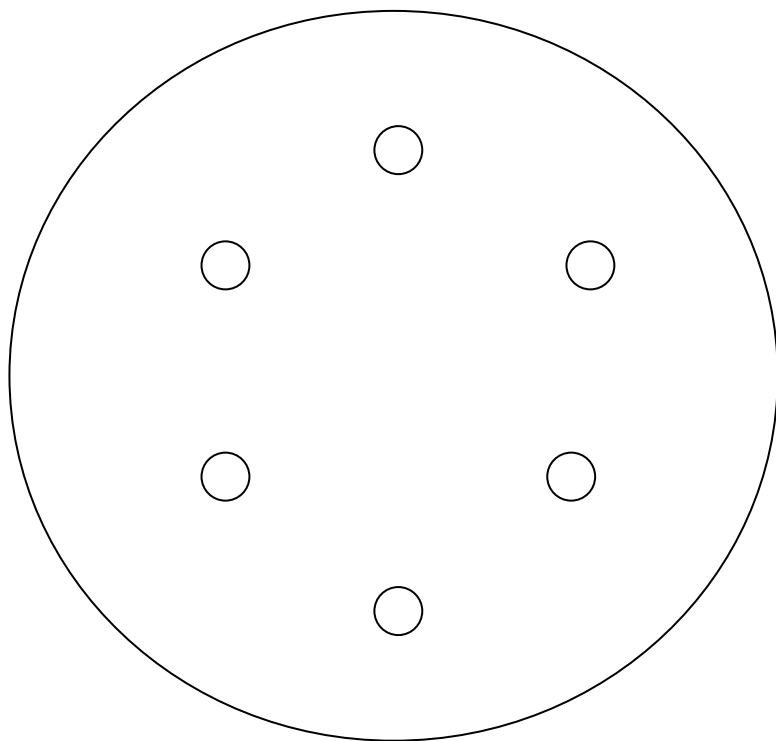
- 1) с.187 – 195, 332-335; 2) с.135 – 147, 254-260; 3) с. 31-34; 4) с.75-78, 63-68; 5) с.145 – 164, 61-65;

6) с.230 – 252, 87-94; 7) с.217 – 226, 102-108.

Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Провести учет чувствительности чистой культуры стрептококка к антибиотикам, которую определили по методу стандартных дисков. Обозначить на рисунке зоны задержки роста. Результаты внести в таблицу (учет антибиотикограммы).



№	Название антибиотика	Диаметр зоны задержки роста (мм)	Чувствительность
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

Вывод:

Задание № 2: Определить минимальную ингибирующую концентрацию цефазолина для культуры стафилококка.

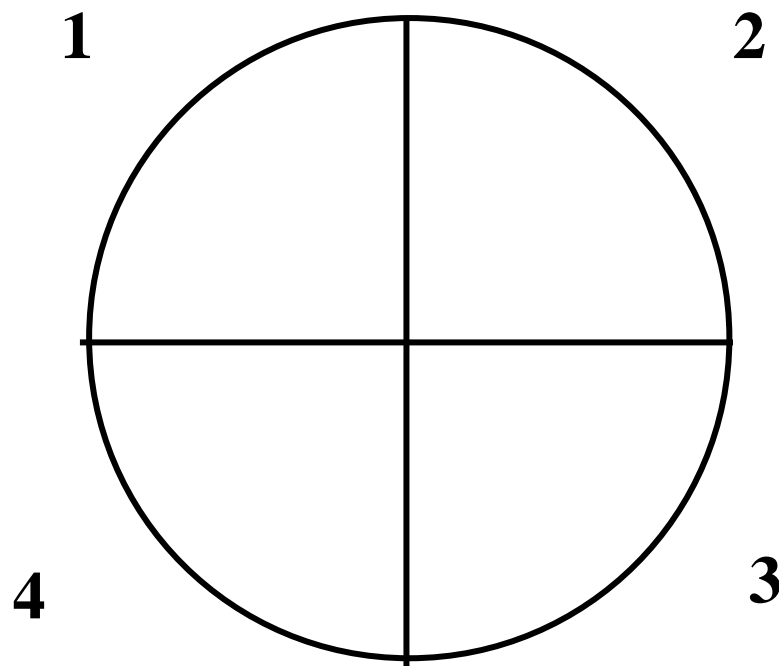
№ пробирок	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ингредиенты									Контроль культуры	Контроль антибиотика
МПБ	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
Раствор антибиотика 16 мкг/мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	0,5
Бульонная культура бактерий	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	—
Концентрация антибиотика мкг/мл	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	—	8
Учет										

“+”-наличие роста

“-”-отсутствие роста

Вывод _____

Задание № 3: Определить минимальную бактерицидную концентрацию цефазолина для культуры стафилококка.
Обозначить на рисунке наличие роста бактерий (пересев в секторы провели из пробирок 1, 2, 3, 4 – см. задание №2).



Вывод: _____

Задание № 4: Провести учет результатов титрования кишечного бактериофага в воде открытого водоема по методу Аппельмана.

№ п/п Ингредиенты (мл)											Контроль	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	фага	культуры
	11	12										
Мясо-пептонный бульон	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Исследуемый фаг	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-
0,85 % NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5
Бульонная культура бактерий	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-	0,05
Разведения	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹	-
Учет результатов												

" + " - наличие лизиса;

" - " - отсутствие лизиса.

Вывод: _____

Задание № 5: Провести учет фаготипирования чистой культуры стафилококка. Результаты внести в таблицу, сделать вывод.

Фаг	Наличие зоны лизиса
3А	
3В	
3С	
55	
71	

“+” - наличие лизиса;

“-” - отсутствие лизиса

Вывод: _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 13

Тема: Итоговое занятие "Физиология и биохимия микроорганизмов. Антибиотики и бактериофаги".

1. Питание бактерий. Источники азота, углерода, минеральных веществ и ростовых факторов.
2. Классификация бактерий по типу питания. Голофитный способ питания. Механизмы переноса питательных веществ в бактериальную клетку.
3. Дыхание бактерий. Аэробный и анаэробный способ окисления. Аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы, микроаэрофилы, капничные бактерии.
4. Конститутивные и индуктивные ферменты бактерий. Экзо- и эндоферменты.
5. Методы изучения ферментативной активности бактерий и использование их для идентификации бактерий.
6. Современные методы идентификации бактерий с помощью автоматизированных ферментных систем идентификации.
7. Использование бактерий и их ферментов в биотехнологии для получения аминокислот, витаминов, гормонов, пептидов, органических кислот, антибиотиков, кормовых белков, обработки пищевых и промышленных продуктов, биологической очистки сточных вод, получение жидкого и твердого топлива.
8. Рост и размножение микробов. Вегетативные формы и формы покоя микробов.
9. Простое деление. Фрагментация.
10. Фазы размножения микроорганизмов в жидкой питательной среде в стационарных условиях.
11. Культуральные свойства бактерий.
12. Основной принцип культивирования бактерий. Питательные среды. Требования к питательным средам.
13. Выделение чистых культур анаэробных и аэробных бактерий.
14. Способы идентификации выделенных культур. Дополнительное изучение свойств, необходимых для лечения и эпидемиологических целей.
15. Бактериологический метод микробиологической диагностики инфекционных заболеваний.
16. Стерилизация. Методы стерилизации.
17. Асептика, антисептика, дезинфекция.
18. Понятие о химиотерапевтических препаратах. Химиотерапевтический индекс.
19. Антибиотики, определение, понятие.

20. Единицы измерения антимикробной активности антибиотиков.
21. Классификация антибиотиков по происхождению, спектру действия, по характеру антимикробного действия и механизму действия.
22. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам: метод стандартных дисков и метод серийных разведений.
23. Осложнения антибиотикотерапии. Дисбактериозы и их профилактика.
24. Естественная и приобретенная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам. Генетические и биохимические механизмы антибиотикорезистентности. Роль плазмид и транспозонов в формировании лекарственной устойчивости у бактерий.
25. Пути предупреждения формирования резистентности у бактерий к антибиотикам.
26. Морфология, структура и химический состав бактериофагов.
27. Вирулентные и умеренные бактериофаги. Стадии взаимодействия бактериофагов с клетками.
28. Лизогения и фаговая конверсия.
29. Специфичность действия бактериофагов.
30. Практическое использование бактериофагов в микробиологии и медицине с целью идентификации бактерий, профилактики и терапии инфекционных заболеваний, оценки микробного загрязнения окружающей среды.

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 14

Тема: Учение об инфекционном процессе. Биологический метод исследования. Применение биологического метода в диагностике заболеваний полости рта.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Определение понятия "инфекция", "инфекционный процесс", "инфекционная болезнь".
2. Условия возникновения инфекционного процесса.
3. Роль микроорганизмов в инфекционном процессе. Патогенность, вирулентность. Единицы вирулентности.
4. Факторы патогенности микроорганизмов: адгезины, инвазины, ферменты патогенности, структуры и вещества бактерий, которые угнетают фагоцитоз, эндотоксины, белковые токсины (экзотоксины).
5. Патогенные свойства рикетсий, хламидий, микоплазм, грибов и простейших. Облигатный внутриклеточный паразитизм вирусов.
6. Роль макроорганизма, внешней среды и социальных условий в возникновении и развитии инфекционного процесса.
7. Звенья эпидемиологической цепи.
8. Распространение микробов и их токсинов в организме.
9. Динамика инфекционного процесса.
10. Формы инфекций.

11. Биологический метод, его применение при изучении этиологии, патогенеза, иммуногенеза, диагностики, терапии и профилактики инфекционных заболеваний.
12. Способы экспериментального заражения и бактериологическое исследование лабораторных животных.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Соблюдение правил противоэпидемического режима и техники безопасности в бактериологической лаборатории.
2. Обеззараживание инфицированного материала, антисептическая обработка рук, контаминированных исследуемым материалом или культурой микробов.
3. Приготовление препаратов из патологического материала, окраска по Граму, микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

Литература:

1) с. 115-137; 2) с. 118; 124-126; 127-131; 3) с. 69-81; 4) с. 98-102, 115-157; 5) с. 5-11; 136; 6) 145-164; 7) с. 135-150.

Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

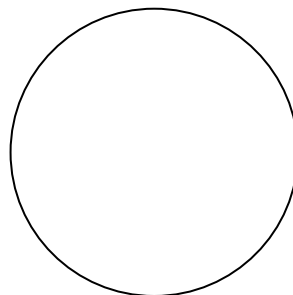
Задания № 1: Определить наличие факторов патогенности у исследуемых культур стафилококков, результаты внести в таблицу.

<i>Факторы патогенности</i>	<i>Культура № 1</i>	<i>Культура № 2</i>
Гемолизины		
Плазмокоагулаза		
Лецитиназа		

Примечание: "+" - наличие фактора патогенности;
"- " - его отсутствие.

Задания № 2: Провести вскрытие погибшего экспериментально зараженного лабораторного животного.

Задания № 3: Приготовить мазки-отпечатки внутренних органов погибшего животного, окрасить по Граму. Микроскопировать, зарисовать.



(охарактеризуйте микроорганизмы с учетом морфологических и тинкториальных свойств)

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 15

Тема: Виды иммунитета. Факторы неспецифичной защиты организма и методы их исследования. Факторы неспецифичной резистентности полости рта.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Понятие "иммунитет". Классификация иммунитета по происхождению, по направленности и механизму действия.
2. Факторы неспецифичной защиты организма: клеточные и тканевые, гуморальные, функционально-физиологические.
3. Фагоцитоз, понятие об опсонинах. Классификация фагоцитирующих клеток. Основные стадии фагоцитоза. Завершенный и незавершенный фагоцитоз.
4. Методы изучения фагоцитарной активности: определение процента фагоцитирующих нейтрофилов, фагоцитарного числа.
5. Гуморальные факторы неспецифичной защиты. Методы их исследования.

6. Механические, химические и биологические факторы неспецифической резистентности в полости рта (слюна, нормальная микрофлора, лизоцим, другие ферменты слюны, комплемент, β -лизины и др.). Особенности фагоцитоза в ротовой полости.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Проводить учет и оценивать результаты реакции титрования лизоцима.
2. Уметь определять процент фагоцитирующих нейтрофилов, фагоцитарное число.
3. Микроскопия препаратов в световом микроскопе с иммерсионным объективом.

Литература:

- 1) с. 137-145; 182; 2) с. 148-165; 235-236; 4) с. 102-104; 5) с. 77-89; 103; 107-108; 6) с. 164-177; 222- 223; 7) с. 163-170; 203; 8) с. 31-37.

Протокол практического занятия
Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задание № 1: Определить титр лизоцима слюны.

Ингредиенты	Номер пробирки							8
	1	2	3	4	5	6	7	Контроль культуры
Физиологический раствор (мл)	1.8	1	1	1	1	1	1	1
Слюна (мл)	0.2	1	1	1	1	1	1	
Разведение	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	-
Тест-культура <i>Micrococcus lysodeikticus</i> (мл)	1	1	1	1	1	1	1	1
Учет результатов								

"+"- лизис тест-культуры; "-"- отсутствие лизиса

Вывод: _____

Задание № 2: Рассмотреть под микроскопом и зарисовать препарат, который демонстрирует явление фагоцитоза.
 Сделать соответствующие обозначения.

(окраска по Романовскому-Гимза)

Задание № 3: Определить процент фагоцитирующих нейтрофилов и фагоцитарное число в мазках крови обследуемых.

Количество фагоцитирующих нейтрофилов	Количество „пустых“ нейтрофилов	Количество захваченных нейтрофилом частичек		
		1-10	11-20	21 и больше
а	б	в	г	д

Процент фагоцитирующих нейтрофилов =

$$\text{Фагоцитарное число (количество частичек в одной клетке)} = \frac{5 \cdot \text{в} + 15 \cdot \text{г} + 25 \cdot \text{д}}{\text{а}}$$

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 16

Тема: Приобретенный иммунитет. Антигены и антитела. Серологический метод микробиологической диагностики инфекционных заболеваний. Применение серологического метода в диагностике заболеваний полости рта. Реакции преципитации и нейтрализации

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Антигены: определение, характеристика, классификация.
2. Антигенное строение микроорганизмов. Локализация, химический состав и специфичность антигенов бактерий, вирусов, ферментов, токсинов. Роль микробных антигенов в инфекционном процессе и развитии иммунного ответа.
3. Антигены гистосовместимости человека, их характеристика и функции.
4. Антитела: определение, структура, классификация, синтез. Понятие о валентности антител. Антигенное строение иммуноглобулинов: изо-, алло-, идиотипические детерминанты. Практическое применение.
5. Динамика образования антител. Первичный и вторичный иммунный ответ, их особенности.
6. Иммуноглобулины слюны. Роль секреторных иммуноглобулинов.
7. Понятие об иммунологической памяти и иммунологической толерантности.
8. Серологические реакции, их механизмы и практическое использование.

9. Основные компоненты серологических реакций. Диагностические иммунные сыворотки, диагностикумы. Моноклональные антитела, их использование.
10. Применение серологического метода в диагностике инфекционных заболеваний при локализации специфического процесса в полости рта (сифилис, гонорея, дифтерия, герпетическая инфекция и др.).
11. Реакции, основанные на феномене преципитации: кольцепреципитация, флокуляция, преципитация в геле. Практическое применение.
12. Реакция нейтрализации (токсинов, вирусов, риккетсий). Практическое применение.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Уметь проводить учет и оценивать результаты реакций преципитации и нейтрализации.

Литература:

- 1) с.145-158; 177-179; 2) с.165-186; 193-198; 232-233; 238; 3) с.44-46; 63; 4) с.112-113; 115-117; 6) с.177-200; 220-221; 223; 7) с.170-181; 194-195; 197-200; 8) с. 37-38.

Протокол практического занятия

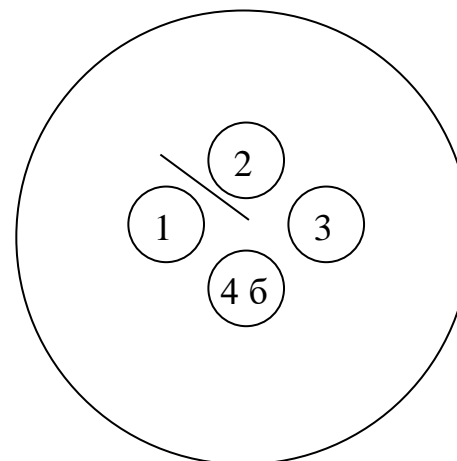
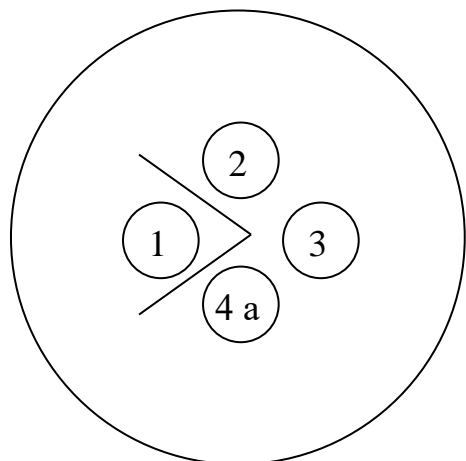
Практические задания, подлежащие исполнению:

Задание № 1: Поставить реакцию термокольцепреципитации (по Асколи) с преципитирующей сибирезвенной сывороткой и экстрактом, который получен из органов погибшего животного. Провести учет и оценить результаты.

Номер пробирки	Опыт	Контроль	Контроль	Контроль
	1	2	3	4
Ингредиенты (мл)				
Противосибирезвенная сыворотка	0,5		0,5	0,5
Исследуемый экстракт	0,5	0,5		
Нормальная сыворотка		0,5		
Сибирезвенный экстракт				0,5
Экстракт без сибирезвенных антигенов			0,5	
Учет				

Вывод:

Задания № 2: Сделать учет и оценить результаты реакции преципитации в геле по демонстрационным препаратами.



Реакция положительная/отрицательная (*неверное вычеркнуть*)

Реакция положительная/отрицательная (*неверное вычеркнуть*)

1. Специфическая иммунная преципитирующая сыворотка (противодифтерийная);
 2. Известный антиген (токсигенная культура возбудителя дифтерии *Corynebacterium diphtheriae*);
 3. Нормальная сыворотка;
- Неизвестный антиген (исследуемые культуры *Corynebacterium diphtheriae* 4a и 4б).

Вывод:

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 17

Тема: Реакция агглютинации. Механизмы специфического иммунитета полости рта.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Центральные и периферические органы иммунной системы.
2. Иммунокомпетентные клетки. Характеристика популяций Т- и В-лимфоцитов.
3. Поверхностные маркеры и рецепторы иммунокомпетентных клеток.
4. Кооперация между иммунокомпетентными клетками в процессе формирования иммунного ответа. Понятие об иммуномодуляторах, иммуностимуляторах и иммуносупрессорах. Интерлейкины.
5. Регуляция иммунного ответа (физиологическая и генетическая).
6. Механизмы специфического иммунитета полости рта.
7. Реакции, основанные на феномене агглютинации: прямая и непрямая агглютинация, реакция торможения

непрямой гемагглютинации, реакция обратной непрямой гемагглютинации, реакция Кумбса – антиглобулиновый тест. Ингредиенты, цель.

8. Практическое использование реакции агглютинации.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Уметь поставить, провести учет и оценить результаты реакции агглютинации на стекле.
2. Уметь проводить учет и оценивать результаты развернутой реакции агглютинации.
3. Уметь проводить учет и оценивать результаты реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

Литература

1) с. 146-149; 172-177; 180-181; 2) с. 182-183; 186-187; 192-193; 199-213; 214; 218-220; 229-230; 3) с. 34-43; 4) с. 107-112; 5) с. 91-105; 132-133; 6) с. 177; 178-179; 218-220; 223; 7) с. 171-173; 192-197; 202-203; 8) с. 37-38.

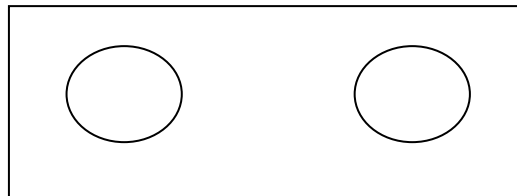
Протокол практического занятия

Практические задания, которые подлежат выполнению:

Задания № 1: Поставить реакцию агглютинации на стекле с диагностической агглютинирующей брюшнотифозной сывороткой (разведение 1:10) и исследуемой суточной культурой бактерий. Сделать учет, зарисовать и оценить результаты.

Контроль

Опыт



Вывод:

Задание № 2: Провести учет и оценить результаты розвернутой реакции агглютинации (РРА) с сывороткой больного и брюшнотифозным диагностикумом.

Номер пробирки Ингредиенты	1	2	3	4	5	6 Контроль диагностикума	7 Контроль сыворотки
Физиологический раствор (мл)	-	1	1	1	1	1	—
Сыворотка больного 1 :50 (мл)	1	1	1	1	1	—	1
Разведение сыворотки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	—	1:50
Диагностикум (капли)	5	5	5	5	5	5	—
Учет результатов							

„+” - образование осадка, надосадочная жидкость прозрачная;

„-” - отсутствие осадка, жидкость мутная.

Вывод: _____

Задание № 3: Провести учет и оценить результаты реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), поставленной с сывороткой больного и эритроцитарным туляремийным диагностикумом.

Ингредиенты	Номер лунки					6	7
	1	2	3	4	5	Контроль диагностикума	Контроль сыворотки
Физиологический раствор (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Сыворотка больного 1:50 (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	0,25
Разведение сыворотки	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	—	1:50
Диагностикум (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Визуальная оценка результатов (зарисовать)							
Учет результатов							

„+” – осадок большого диаметра, зернистый, с неровным краем (“коврик”)

„-” - осадок малого диаметра, плотный, однородный, с ровным краем (“пуговка”).

Вывод:

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 18

Тема: Реакция иммунного лизиса (бактериолиз, гемолиз). Реакция связывания комплемента (РСК). Реакции с использованием меченных антигенов и антител.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Клеточный иммунный ответ. Виды иммунных реакций клеточного типа.
2. Гуморальный иммунный ответ и его этапы.
3. Реакция иммунного лизиса: компоненты, механизм, практическое применение.
4. Реакция бактериолиза: компоненты, методика постановки, оценка результатов, практическое применение.
5. Реакция иммунного гемолиза: компоненты, методика постановки, учет и оценка результатов. Применение.
6. Реакция связывания комплемента (РСК): компоненты, механизм, методика постановки, учет и оценка

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Проводить учет и оценивать результаты реакции связывания комплемента.
2. Проводить учет и оценивать результаты реакции иммунофлюоресценции, иммуноферментного анализа.

результатов реакции, практическое применение.

7. Реакция иммунофлюоресценции (РИФ): прямая и непрямая.
8. Иммуноферментный анализ (ИФА): прямой, непрямой, твердофазный, конкурентный, иммуноблоттинг.
9. Радиоиммунный анализ (РИА): конкурентный, обратный, косвенный.
10. Иммуноэлектронная микроскопия.
11. Практическое использование указанных методов исследования.

Литература:

- 1) с. 160-167; 179-180; 182 - 183; 2) с. 234-235; 233 - 234; 236-238;
- 3) с. 47-54; 54-63; 4) с. 118-122; 107; 114 -115; 118; 5) с. 105-106; 134-135; 117 - 119, 126 -128; 6) с. 200-215; 221-222; 223-225;
- 7) с. 185-192; 200-201; 204.

Протокол практического занятия
Практические задания, которые подлежат выполнению

Задание № 1: Произвести учет и оценку результатов реакции связывания комплемент (РСК) сывороткой больного и гонококковым диагностикумом.

Ингредиенты (мл) Номер пробирки	Исследуемая сыворотка (разведение 1:10)	Антиген (рабочая доза)	Комплемент (рабочая доза)	Физиологический раствор	Гемолитическая система		Учет	
					Гемолитична сыворотка	Эритроциты барана	Гемолиз	РСК
1 (опыт)	0,5	0,5	0,5	-	0,5	0,5		
2 (контроль сыворотки)	0,5	-	0,5	0,5	0,5	0,5		
3 (контроль антигена)	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		

«+» - позитивный результат

«-» - негативный результат

Вывод:

Задание № 2: Зарисовать схему прямой и непрямой реакции иммунофлюоресценции (РИФ).

прямая РИФ

непрямая РИФ



Задание № 3: Зарисовать схему прямого и непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

прямой ИФА

непрямой ИФА



Задание № 4: Провести учет и оценить результаты иммуноферментного анализа (ИФА) с целью выявления антител к антигенам возбудителя сифилиса. Внести результаты исследований в таблицу.

Данные фотометрии исследованных образцов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A B C D E F G H												

Вывод:

Подпись преподавателя _____

Дата _____

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 19

Тема: Иммунный статус человека и методы его оценки. Естественные и приобретенные иммунодефицитные состояния. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней.

Задания для самостоятельной работы:

а) Перечень вопросов, которые подлежат изучению:

1. Понятие об иммунном статусе. Иммунный статус, как динамически уравновешенная система. Иммунитет полости рта.
2. Иммунодефицитные состояния и причины их возникновения. Роль иммунодефицитов в развитии инфекционных процессов в полости рта.
3. Первичные и вторичные иммунодефицитные состояния.

Особенности иммунного ответа (реактивности) при нарушении наиболее чувствительных звеньев иммунной системы.

5. Показатели, которые характеризуют состояние иммунной системы организма человека (иммунограмма):
 - а) неспецифические показатели (макрофаги, нормальные киллеры, комплемент, интерфероны, лизоцим);
 - б) специфические показатели (иммуноглобулины, Т- и В-лимфоциты и их субпопуляции, индекс стимуляции митогенами и прочие).
6. Методы оценки общего состояния иммунной системы и мотивы их выбора:
 - а) иммунологические тесты I уровня (ориентировочные): определение титра комплемента, оценка фагоцитарной активности нейтрофилов, концентрации основных классов иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), общего количества лимфоцитов, Т- и В-лимфоцитов;
 - б) иммунологические тесты II уровня (аналитические): НСТ-тест, определение ЛКБ, количества Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций (CD^{4+} , CD^{8+} и др.), специфических IgE, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), функциональной активности лимфоцитов (реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ)).
7. Общие правила, которых целесообразно придерживаться при интерпретации иммунограмм.
8. Практическая значимость оценки иммунограмм.
9. Активная и пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия.
10. Вакцины: типы, получение, оценка эффективности и контроль. Адьюванты.
11. Вакцинопрофилактика и вакциноterapia. Аутовакцины.
12. Современные подходы к специфической профилактике кариеса.
13. Противопоказания и осложнения, которые наблюдаются при вакцинопрофилактике и вакцинотерапии. Предотвращение осложнений.
14. Сыворотки: классификация, принципы получения, очистки и контроля сывороток и иммуноглобулинов.
15. Серопрофилактика и серотерапия.

16. Осложнения при серотерапии и серопротифлакфике. Предотвращение осложнений.

б) Перечень практических навыков и умений, которыми необходимо овладеть:

1. Научиться заполнять бланки иммунограмм.
2. Уметь оценивать иммунограмму.
3. Проводить учет и оценивать результаты серологических реакций.

Литература: 1) с. 158-160; 183 -187; 2) с. 215-224; 148; 225 - 228; 4) с.102-107; 123 -125; 5) с. 108 - 112; 6) с.208-209; 216-218; 494-497; 221, 225 - 230; 7) с. 181 – 185; 212 - 216; 8) с.37-38, 55-56.

Протокол практического занятия
Практические задания, что подлежат выполнению:

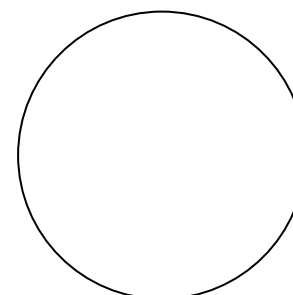
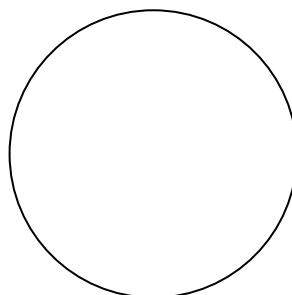
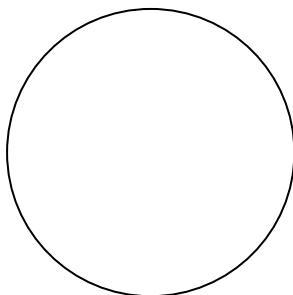
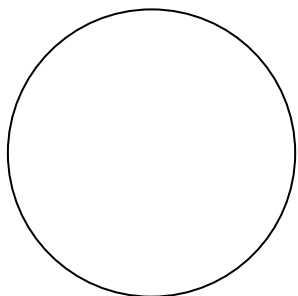
Задание № 1: Микроскопировать демонстрационные препараты для определения НСТ-теста, зарисовать нейтрофилы разных групп (в зависимости от количества гранул диформаза в цитоплазме).

0

1

2

3



Задание № 2: Оценить кислород-активирующую способность нейтрофилов по НСТ-тесту у обследуемых людей, используя результаты подсчета нейтрофилов в мазке крови и распределения их по группам:

	Обследованные		
	№1	№2	№3
0 – нейтрофилы без гранул			
1- нейтрофилы с единичными гранулами или с площадью окрашенной цитоплазмы до 25-30%			
2 – нейтрофилы с цитоплазмой на 30-70% заполненной гранулами диформаза			
3 - нейтрофилы, цитоплазма которых на 100% заполнена гранулами диформаза			

Рассчитать средний цитохимический коэффициент (СЦК), внести в бланки иммунограм.

Обследуемый № 1 СЦК =

Обследуемый № 2 СЦК =

Обследуемый № С СЦК =

Вывод:

Завдання № 3: Определить концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, и G в сыворотках крови обследуемых с помощью иммуноферментного метода по результатам фотометрии контрольных и исследуемых образцов, используя обратно-пропорциональный расчет и учитывая концентрацию иммуноглобулинов в контрольных пробах:

IgA -1,59 мг/мол; IgM -1,32 мг/мол; Ig - 8,95 мг/мол.

Результаты фотометрии внести в таблицу.

Вычисленные концентрации Ig (А, М, G) внести в бланки иммунограмм.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	б	3	7	11	б	3	7	11	б	3	7	11
B	б	3	7	11	б	3	7	п	б	3	7	11
C	кс	4	8	12	кс	4	8	12	кс	4	8	12
D	кс	4	8	12	кс	4	8	12	кс	4	8	12
E	1	5	9	13	1	5	9	13	1	5	9	13
F	1	5	9	13	1	5	9	13	1	5	9	13
G	2	6	10	14	2	6	10	14	2	6	10	14
H	2	6	10	14	2	6	10	14	2	6	10	14
	IgA				IgM				IgG			

	Обследуемый №1	Обследуемый №2	Обследуемый №3
IgA			
IgM			
IgG			

Вывод: _____

Задание № 4: Внести в бланки иммунограмм результаты обследования пациентов, оценить полученные результаты.

Иммунограмма

Показатели	Содержание в 1 мкл (%)	Обследуемый № 1	Обследуемый № 2
Абсолютное количество лейкоцитов	4500-7000 (100 %)		
В том числе: нейтрофилов	4000 (65%)		
Эозинофилов	200-400 (4%)		
Абсолютное количество лимфоцитов	1500-2000 (25%)		
-CD3 (Т-общие)	800-1200		
-CD4 (Т-хелперы)	500-900		
-CD8 (Т-киллеры)	400-600		
-CD16 (NK)	170-400		
-CD20 (В-клетни)	200-400		
HLA II	340-720		
Иммуноглобулины			
IgG	8-12 г/л		
IgM	0.5-1,9 г/л		
IgA	1,4-4,2 г/л		
IgE	20-100 КЕ/л		
ЦК, (усл.ед.)	20-80		
Фагоцитоз			
	Спонтанный	Стимулированный	Индекс стимуляции
НСТ-тест (од.млн.кл.)	70-120	150-200	1,2-2
Фагоцитоз (%)	48-88		
Индекс фагоцитоза	1,3-3		
Адгезия (%)	40-55	70-80	

Реакция бласттрансформации			
	ФГА	PWM	
РБТЛ	20-100	5-20	
Комплемент			
C1q		100-250	
C3		700-1800	
C4		200-500	
C5a		0,01-0,03	

Вывод: _____

Задания № 5: Ознакомиться с конкретными иммунобиологическими препаратами, которые применяются для специфической профилактики и лечения инфекционных болезней. Характеристику препаратов внести в соответствующие таблицы.

Вакцины

	Вакцина №1	Вакцина №2	Вакцина №3
Название			
Тип			
Состав			
Назначение			
Форма создаваемого иммунитета			

Сыворотки

	Сыворотка № 1	Сыворотка № 2	Сыворотка № 3
Название			
Степень очистки (метод получения)			
Состав (характер антител)			
Назначение			
Форма создаваемого иммунитета			

Подпись преподавателя _____

1. Определение числа лейкоцитов в крови.

Метод основан на подсчете лейкоцитов в единице объема (л или мкл) крови при постоянном разведении крови и определенном объеме камеры для подсчета. Подсчет лейкоцитов проводят на малом увеличении микроскопа (объектив x8, окуляр x10), в затемненном поле зрения (опущенный конденсор или суженная диафрагма) в 100 больших квадратах камеры Горяева, полученное число умножают на 50, выражают в виде $a \cdot 10^9/\text{л}$ или $\text{тыс}/\text{мкл}$.

2. Определение числа лимфоцитов в крови.

Определение числа лимфоцитов в крови проводят путем подсчета лейкоцитарной формулы, определяют процентное соотношение лейкоцитов в мазке крови, окрашенной по Романовскому-Гимза или Папенгейму. Зная процентное содержание лимфоцитов и общее число лейкоцитов в единице объема крови, находят абсолютное количество лимфоцитов в крови (в 1 л или мкл).

3. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов крови методом непрямой иммунофлуоресценции.

Принцип метода: специфические моноклональные антитела связываются с мембранными антигенами (рецепторами CD^3 , CD^4 , CD^8 , CD^{16} , CD^{20} и др.) живых клеток (лимфоцитов), которые находятся в суспензии. Для выявления данного комплекса используют антивидовые антитела к иммуноглобулинам, меченные флюорохромом. При люминесцентной микроскопии препаратов определяют процентное содержание лимфоцитов определенной субпопуляции, а потом высчитывают их абсолютное количество и соотношение отдельных субпопуляций (CD^4/CD^8 , $\text{CD}^3/\text{CD}^{20}$).

4. Определение концентрации Ig A, M, G.

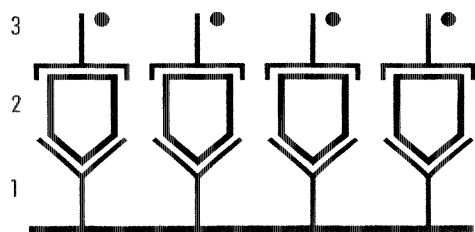
Для количественного определения иммуноглобулинов в сыворотке крови и других биологических жидкостях человека используют твердофазный метод иммуноферментного анализа (ИФА).

Прямой твердофазный метод ИФА основан на принципе „сендвича“. Анализ проводится в две стадии.

На первой стадии контрольные образцы с известной концентрацией иммуноглобулинов (A, M, G) и исследуемые пробы инкубируются в лунках полистиролового планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к иммуноглобулинам (A, M, G). Потом планшет „отмывается“ (для удаления из системы других, неспецифично связанных с моноклональными антителами компонентов).

На второй стадии иммуноглобулин (A, M, G), который связался в лунках, обрабатывают конъюгатом МКАТ к Ig (A, M, G) человека с пероксидазой (МКАТ в составе конъюгата и иммобилизованные в лунках планшета МКАТ специфические к разным участкам молекулы Ig (A, M, G)).

После „отмывания“ излишка конъюгата иммунные комплексы „иммобилизованные МКАТ - Ig (A, M, G) - конъюгат“ выявляют ферментативной реакцией пероксидазы с перекисью водорода в присутствия хромогена. Интенсивность окраски хромогена пропорциональна концентрации Ig (A, M, G) в исследуемом образце. После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом результаты регистрируют фотометрией образцов (измеряют оптическую плотность в лунках планшета при 492 нм).



1- МКАТ к Ig (A,M,G), иммобилизованные в лунках планшета;

2- Ig (A,M,G) исследуемых образцов;

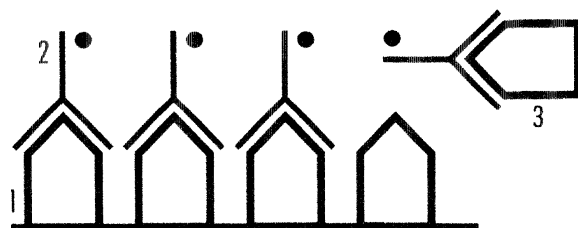
3 -конъюгат (МКАТ к Ig (A,M,G) с ферментной меткой).

Конкурентный твердофазный метод ИФА.

В лунки полистиролового планшета с иммобилизованными иммуноглобулинами человека (IgA – 1-4 ряды, IgM – 5-8 ряды, IgG – 9-12 ряды) вносят контрольные сыворотки (“кс”) с известной концентрацией Ig (A, M, G), исследуемые образцы (14) и фосфатно-солевой буфер (“б”, используется для разведения образцов, контролей, конъюгатов, промывания планшета). Непосредственно после этого в лунки вносят соответствующие растворы конъюгатов (конъюгат А

(МКАТ к IgA с ферментной меткой – пероксидазой) – в 1-4 ряды, конъюгат М – в 5-8 ряды, конъюгат G в 9-12

ряды). Иммуноглобулины, которые содержатся в исследуемых образцах, конкурируют с иммобилизованными на твердой фазе иммуноглобулинами за связь с конъюгатом. Степень связывания введенных МКАТ с иммуноглобулинами твердой фазы снижается (их “перехватывают” иммуноглобулины исследуемых образцов). После инкубации планшет промывают. Связь МКАТ в составе конъюгата с иммобилизованными иммуноглобулинами оценивают с помощью ферментативной реакции пероксидазы с перекисью водорода в присутствия хромогена. Для этого в лунки вносят субстратную смесь (субстрат – H_2O_2 и хромоген) и снова инкубируют. После остановки стоп-реагентом ферментативной реакции результаты регистрируют фотометрией образцов.



1 -иммобилизованные в лунках планшета иммуноглобулины (A,M,G);

2 -МКАТ к Ig (A,M,G) с ферментной меткой;

3 -иммуноглобулины (A,M,G) исследуемых образцов.

Концентрацию иммуноглобулинов (A, M, G) в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику, или используют обратно пропорциональный расчет:

$$\frac{P_k}{P_x} = \frac{C_k}{C_x}, \text{ де}$$

P_k - оптическая плотность контрольного образца
 P_x - оптическая плотность исследуемого образца,
 C_k - концентрация иммуноглобулина в контрольном образце,
 C_x - концентрация иммуноглобулина в исследуемом образце.
 Исходя из этого:

$$C_x = \frac{P_k \cdot C_k}{P_x}$$

5. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

В основе метода лежит способность раствора полиэтиленгликоля (ПЕГ) осаждать из сыворотки агрегированные иммуноглобулины и

количество фагоцитующих нейтрофилов	количество "пустых" нейтрофилов	количество захваченных нейтрофилом частиц		
		1-10	11-20	21 и больше
а	б	в	г	д

фагоцитарное число (количество долек в одной клетке) = $\frac{5 \cdot v + 15 \cdot r + 25 \cdot d}{a}$
 где 5, 15, 25 - количество частиц в одном нейтрофиле; v, r, d - количество нейтрофилов.

7. Определение кислородо-активирующей способности нейтрофилов с помощью НСТ-теста.

Метод основан на способности зрелых гранулоцитов восстанавливать за счет активных форм кислорода (супер-оксиданионрадикал, который выделяется при активации дыхательного взрыва нейтрофилов) пиноцитований светло-желтого цвета краситель тетразолиевого ряда - нитросиний тетразолий (НСТ) до нерастворимой формы - диформаза, который имеет вид темно-синих гранул в цитоплазме нейтрофилов. Применяют спонтанный и стимулированный (убитой культурой золотистого стафилококка или зимозаном) НСТ-тест. В мазке крови при иммерсионной микроскопии подсчитывают 100 нейтрофилов, распределяя их по группам в зависимости от количества гранул диформаза в цитоплазме.

- 0 - нейтрофилы без гранул;
- 1 - нейтрофилы с единичными гранулами или с площадью окрашенной цитоплазмы до 25-30%;
- 2 - нейтрофилы с цитоплазмой, на 30-70% заполненной гранулами диформаза;
- 3 - нейтрофилы, цитоплазма которых на 100% заполненная гранулами диформаза. Рассчитывают средний цитохимический коэффициент по формуле:

иммунные комплексы. Низкие концентрации ПЕГ осаждают комплексы больших размеров, высокие концентрации вызывают преципитацию низкомолекулярных соединений. Изменение плотности растворов регистрируется на спектрофотометре при длине волны 280 нм.

6. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов.

В основе метода лежит способность фагоцитов (нейтрофилов) захватывать частички латекса, которые окрашиваются по Романовскому-Гимза в голубой цвет. Под микроскопом просматриваются 100 лейкоцитов (нейтрофилов) и определяют количество захваченных ими частиц, поглощенных в среднем одним нейтрофилом и процент фагоцитующих нейтрофилов - то есть, количество нейтрофилов из 100, которые проявило фагоцитарную активность (а).

$$\text{СЦК} = \frac{0 \cdot a + 1 \cdot б + 2 \cdot в + 3 \cdot г}{100}$$

где $a, б, в, г, д$ - количество нейтрофилов одной группы; $0, 1, 2, 3$ - группы нейтрофилов.

Если применяют спонтанный и стимулированный НСТ-тест, то рассчитывают индекс стимуляции:

$$\text{ИС} = \frac{\text{СЦК стимулированного НСТ-теста}}{\text{СЦК спонтанного НСТ-теста}}$$

8. Определение лизосомальных катионных белков (ЛКБ).

Катионные белки - это неферментные белки, медиаторы воспаления, которые локализуются в лизосомах гранулоцитов и играют важную роль в реализации бактерицидной функции нейтрофилов. ЛКТ - это метод, который позволяет быстро определить сдвиг в уровне неспецифической резистентности и дать оценку тяжести течения заболевания.

В основе цитохимического исследования катионных белков - использование диахромных анионных красителей.

Лизосомы нейтрофильных, эозинофильных гранулоцитов и бактерии, которые погибли под влиянием катионных белков, окрашиваются в один цвет (в зависимости от красителя, который применяется: забуференный спиртовой раствор прочного зеленого - в зеленый, бромфеноловый синий - в синий), а клеточные элементы (ядра) и жизнеспособные бактерии - в другой (при применении азура А - в сиреневый и синий цвета, сафранина - оранжевый и красный). При иммерсионной микроскопии препарата (мазка крови, костного мозга, мокроты, препарата-отпечатка с поверхности очага воспаления, смывов из бронхов) подсчитывают 100 нейтрофилов, распределяя их по группам в зависимости от наличия положительной реакции на КБ и их интенсивности:

0 - не дают положительной реакции на катионные белки;

1 - дают слабо выраженную положительную реакцию;

2 - дают выраженную положительную реакцию;

3 - дают ярко выраженную положительную реакцию.

Рассчитывают средний цитохимический коэффициент по формуле:

$$\text{СЦК} = \frac{a \cdot 0 + б \cdot 1 + в \cdot 2 + г \cdot 3}{100}$$

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 20

Тема: Итоговое занятие: „Учение об инфекции”. „Учение об иммунитете”.

1. Определение понятия "инфекция", "инфекционный процесс", "инфекционная болезнь".
2. Условия возникновения инфекционного процесса.
3. Роль микроорганизмов в инфекционном процессе. Патогенность, вирулентность. Единицы вирулентности.
4. Факторы патогенности микроорганизмов: адгезины, инвазины, ферменты патогенности, структуры и вещества бактерий, которые угнетают фагоцитоз, эндотоксины, белковые токсины (экзотоксины).
5. Роль макроорганизма, внешнего окружения и социальных условий в возникновении и развитии инфекционного процесса.
6. Звенья эпидемиологической цепи.
7. Распространение микробов и их токсинов в организме.
8. Динамика инфекционного процесса.
9. Формы инфекций.
10. Биологический метод исследования, его применение при изучении этиологии, патогенеза, иммуногенеза, диагностики, терапии и профилактики инфекционных заболеваний.
11. Способы экспериментального заражения и бактериологическое исследование лабораторных животных.
12. Понятие об иммунитете. Классификация. Видовой и индивидуальный иммунитет.
13. Неспецифические факторы иммунитета: клеточные и тканевые, гуморальные, функционально-физиологические. Характеристика, функции.
14. Индивидуальный иммунитет. Классификация.
15. Система приобретенного иммунитета. Центральные и периферические органы иммунной системы. Имунокомпетентные клетки: Т- и В-лимфоциты и макрофаги.
16. Характеристика популяций Т- и В-лимфоцитов.
17. Антигены. Понятие о чужеродности, антигенности, иммуногенности и специфичности. Полноценные антигены, гаптены, полугаптены.
18. Антигенное строение бактерий, вирусов.
19. Антигенное строение токсинов, анатоксинов, бактериальных ферментов.
20. Антигены главного комплекса гистосовместимости (НІА) и их характеристика и функции.
21. Кооперация между иммунокомпетентными клетками в процессе иммунного ответа организма. Регуляция иммунного ответа (физиологическая, генетическая).
22. Антитела. Структура и функции иммуноглобулинов. Понятие о валентности антител. Антигенные свойства иммуноглобулинов: изо-, ало-, идиотипы. Понятие о моноклональных антителах.

23. Классы иммуноглобулинов, их свойства, уровень содержания в сыворотке крови.
24. Динамика антителообразования. Первичный и вторичный иммунный ответ, их особенности.
25. Понятие об иммунологической памяти и иммунологической толерантности.
26. Формы противоинфекционного иммунитета: по связи с возбудителем (стерильный и нестерильный), по охвату организма (общий и местный), по механизму (гуморальный, клеточный, смешанный), по направленности (антитоксический, антибактериальный, противовирусный, антигрибковый, противопаразитарный).
27. Современные теории иммуногенеза.
28. Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Вакцины и сыворотки (их назначение). Типы вакцин: живые, убитые, химические, анатоксины, комбинированные, рекомбинантные (генно-инженерные), антиидиотипические, рибосомальные, их назначение, принцип получения, степень эффективности.
29. Вакциноterapia. Препараты. Степень эффективности. Механизм действия.
30. Противопоказания и осложнения, которые наблюдаются при вакцинотерапии и вакцинопрофилактике. Предотвращение осложнений.
31. Классификация иммунных сывороток: по цели, характере антител, происхождению. Методы получения. Степень эффективности. Дозирование.
32. Классификация иммунных сывороток по степени очистки от балластных белков. Принципы очистки.
33. Осложнения при серотерапии и серопрфилактике. Предотвращение осложнений.
34. Иммунодефицитные состояния (понятие, принципы классификация).
35. Аутоиммунные заболевания (понятие, механизм реализации, проявления).
36. Понятие об иммунном статусе организма. Иммунокорректирующая терапия.
37. Практическое применение серологического метода исследования: серологическая идентификация, серологическая диагностика.
38. Серологические реакции: РП, РН. РНГА, РТГА, РСК. Ингредиенты реакций, механизм, техника постановки, учет, оценка результатов, назначение.
39. Серологические реакции с использованием метки: РИФ, ИФА, РИА. Ингредиенты реакций, техника постановки, учет, оценка результатов, назначение.
40. Опсоно-фагоцитарная реакция.
41. Иммунологические основы аллергических реакций. Аллергены. Кожные аллергические пробы.
42. Решение ситуационных задач.

Профильные вопросы для студентов стоматологического факультета:

1. Иммунитет полости рта.
2. Специфические и неспецифические факторы иммунной защиты полости рта, их взаимодействие.
3. Поражение разных структур ротовой полости, лица, шеи, которые наблюдаются при наследственных и приобретенных иммунодефицитных состояниях (кандидоз слизистой оболочки полости рта, языка, миндалин, губ, кожи лица, патологии вирусного и бактериального происхождения и т.др.)
4. Иммунокорегулирующая терапия в стоматологической практике.
5. Вакциноterapia в стоматологической практике.
6. Методы исследования отдельных звеньев системы иммунитета, которые обеспечивают гомеостаз компонентов полости рта: а) количественные методы (определение количества таких клеток, как фагоциты, Т- и В-лимфоциты; определение титра БАВ в ротовой жидкости); б) функциональные пробы.

Содержание

	Стр.
1. Микробиологическая лаборатория: организация, оснащение, назначение. Методы микроскопического исследования. Бактериоскопический метод диагностики инфекционных заболеваний.....	5
2. Морфология и структура бактерий. Методы приготовления препаратов из культур бактерий и патологического материала. Простые методы окраски. Окраска бактерий по методу Грама.....	8
3. Структура бактериальной клетки: включения, капсула, жгутики. Методы их выявления. Методы выявления спор и кислотоустойчивых бактерий.....	11
4. Морфология и структура спирохет, актиномицетов, грибов и простейших. Методы изучения их морфологии.....	14
5. Морфология и структура риккетсий, хламидий, микоплазм и вирусов. Методы их выявления.....	17
6. Морфология и структура микроорганизмов, которые входят в состав нормальной микрофлоры полости рта. Микроскопический метод исследования в стоматологии	20
7. Итоговое занятие "Морфология микроорганизмов".....	23
8. Культивирование бактерий, питательные среды. Методы стерилизации, дезинфекции. Методы выделения чистых культур аэробных бактерий (1-й этап исследования). Бактериологический (культуральный) метод диагностики инфекционных заболеваний.....	25
9. Выделение чистых культур аэробных бактерий (2-й этап исследования). Культуральные свойства бактерий.....	29
10. Выделение чистых культур аэробных бактерий (3-й и 4-й этапы исследования). Методы изучения ферментативной активности бактерий.....	33
11. Методы выделения чистых культур анаэробных бактерий (1-5 этапы исследования). Бактериологический метод исследования в стоматологии.....	36
12. Микробиологические основы антимикробной химиотерапии. Принципы антимикробной химиотерапии в стоматологии. Антибиотики. Бактериофаги.....	41
13. Итоговое занятие "Физиология и биохимия микроорганизмов. Антибиотики и бактериофаги".....	47
14. Учение об инфекционном процессе. Биологический метод исследования. Применение биологического метода в диагностике заболеваний полости рта.....	49
15. Виды иммунитета. Факторы неспецифической защиты организма и методы их исследования. Факторы неспецифической резистентности полости рта.....	51
16. Приобретенный иммунитет. Антигены и антитела. Серологический метод микробиологической диагностики инфекционных заболеваний. Применение серологического метода в диагностике заболеваний полости рта. Реакции преципитации и нейтрализации.....	54

17. Реакция агглютинации. Механизмы специфического иммунитета полости рта.....	57
18. Реакция иммунного лизиса (бактериолиз, гемолиз). Реакция связывания комплемента (РСК). Реакции с использованием меченных антигенов и антител.....	61
19. Иммунный статус человека и методы его оценки. Естественные и приобретенные иммунодефицитные состояния. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней.....	66
20. Итоговое занятие: „Учение об инфекции”, „Учение об иммунитете”.....	78