

Вищий державний навчальний заклад України
“Українська медична стоматологічна академія”
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

ПОСІБНИК
до практичних занять
з мікробіології, вірусології та імунології
для студентів стоматологічного факультету
частина I

студента(ки) стоматологічного факультету

II курсу _____ групи

Полтава 2007

Посібник для практичних занять з мікробіології, вірусології та імунології складений авторським колективом:

1. ЛОБАНЬ Галина Андріївна - завідувачка кафедри, д.м.н., професор
2. ФЕДОРЧЕНКО Віра Іванівна – завуч кафедри, к.б.н., доцент
3. ЗВЯГОЛЬСЬКА Ірина Миколаївна – к.б.н., доцент
4. ПОЛЯНСЬКА Валентина Павлівна - к.б.н., доцент
5. КНИШ Оксана Василівна – викладач

Посібник для практичних занять з мікробіології, вірусології та імунології рекомендований Центральним методичним кабінетом з вищої освіти МОЗ України від 28.02.2006 р. (протокол №1) для аудиторної та позааудиторної роботи студентів з мікробіології, вірусології та імунології. Він може бути використаний для підготовки до практичних, підсумкових занять, іспиту з предмету.

Посібник є інтелектуальною власністю і без письмового дозволу авторів не може бути скопійованим і розмноженим у повному обсязі або частинами, окрім рукописної форми.

Авторські права захищені Законом України “Про авторське право та суміжні права”.

СПІВРОБІТНИКИ КАФЕДРИ

1. ЛОБАНЬ Галина Андріївна - завідувачка кафедри, д.м.н., професор
2. ФЕДОРЧЕНКО Віра Іванівна – завуч кафедри, к.б.н., доцент
3. ЗВЯГОЛЬСЬКА Ірина Миколаївна - к.б.н., доцент
4. ПОЛЯНСЬКА Валентина Павлівна - к.б.н., доцент
5. КОСТІЧ Ольга Олексіївна - к.б.н., викладач
6. ГАНЧО Ольга Валеріївна – к.б.н., викладач
7. КОВАЛЕНКО Нінель Павлівна - к.б.н., викладач
8. КНИШ Оксана Василівна – викладач
9. ЗАЧЕПИЛО Світлана Вікторівна – к.мед.н., викладач
10. КАНДЗЮБА Світлана Іванівна – старший лаборант
11. ВАНЖА Любов Григорівна - лаборант
12. БРЕЧКА Галина Валентинівна - препаратор
13. КІРІЙ Ірина Миколаївна - препаратор

Література для самостійної роботи:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн 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. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П. Практична мікробіологія : Посібник.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2004.- 438 с.
4. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней / Под ред. проф Кривошеина Ю. С.- К.: Вища школа, 1986.- 376 с.
5. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Борисова Л.Б.- М.: Медицина, 1984 - 255 с.
6. Медицинская микробиология / Гл. ред.В.И. Покровский, О.К. Поздеев - М.: Геотар Мед., 1998. - 1183 с.
7. Тимаков В.Д., Левашов В.С., Борисов Л.Б. Микробиология. - М.: Медицина, 1983. - 497 с.
8. Пяткин К.Д., Кривошеин Ю.С. Микробиология. - М.: Медицина, 1981. - 512 с.
9. Лобань Г. А., Федорченко В. І., Мікробіологія, вірусологія та імунологія порожнини рота.- Полтава: Верстка, 2004.-123с.

Надалі навчальна література до кожного заняття наводиться під вказаними номерами.

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 1

Тема: Мікробіологічна лабораторія: організація, обладнання, призначення. Методи мікроскопічного дослідження. Бактеріоскопічний метод діагностики інфекційних захворювань.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Предмет і задачі медичної мікробіології. Значення мікробіології в діяльності лікаря.
2. Призначення, обладнання та організація роботи мікробіологічної лабораторії.
3. Правила роботи та техніка безпеки у мікробіологічній лабораторії.
4. Мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів: імерсійна, фазовоконтрастна, темнопольна, люмінесцентна, електронна мікроскопія.
5. Будова світлового мікроскопа.
6. Правила мікроскопії у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки у мікробіологічній лабораторії.
2. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

- 1) с. 10-19; 2) с. 5-18; 3) с. 5-18; 4) с. 5-9; 5) с. 5-19; 6) с. 1-5; 113-120; 7) с. 7 - 21; 8) с. 4-18.

Правила роботи з імерсійним мікроскопом

- I. 1. Працювати із штучним джерелом світла.
 2. Використовувати плоске дзеркало.
 3. Діафрагму повністю відкрити.
 4. Конденсор підняти у верхнє положення.
 5. На малому збільшенні встановити максимальне освітлення.
- II. 1. Візуально оцінити препарат.
 2. Нанести на препарат 1-2 краплі імерсійного масла.
 3. Покласти препарат на предметний столик.
- III. 1. Револьвером встановити в робоче положення імерсійний об'єктив.
 2. Макрогвинтом опустити об'єктив до дотику з покривним склом.
 3. Шукати зображення препарату, повільно підіймаючи об'єктив макрогвинтом.
 4. Тонку регуляцію зображення виконати за допомогою мікрогвинта.
- IV. 1. Після закінчення роботи підняти об'єктив макрогвинтом.
 2. Поставити мікроскоп на мале збільшення.

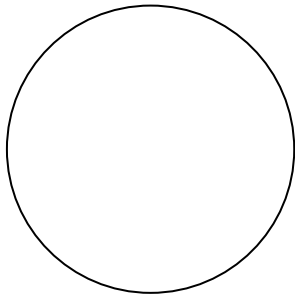
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

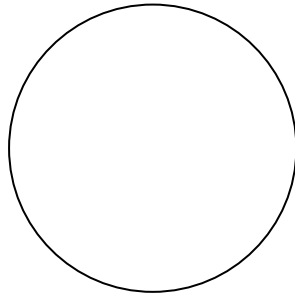
Завдання № 1: Вивчити правила роботи і техніки безпеки у мікробіологічній лабораторії.

Завдання № 2: Вивчити будову світлового мікроскопу і засвоїти техніку роботи з імерсійним об'єктивом.

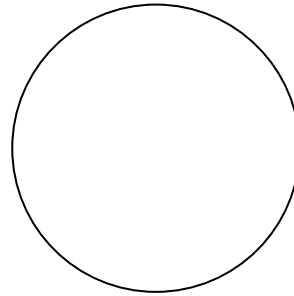
Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати: 1) стафілококи, 2) стрептококи, 3) монобактерії, 4) сарцини.



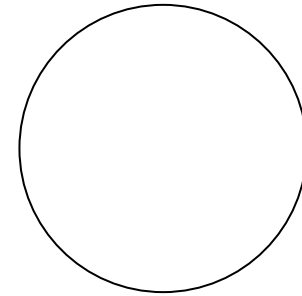
стафілококи



стрептококи



монобактерії



сарцини

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №2

Тема: Морфологія та структура бактерій. Методи приготування препаратів з культур бактерій і патологічного матеріалу. Прості методи забарвлення. Забарвлення бактерій за методом Грама.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Класифікація мікроорганізмів за формою, кількістю і взаємним розташуванням клітин.
2. Структура бактеріальної клітини. Клітинна стінка, периплазма, цитоплазматична мембрана, цитоплазма, нуклеоїд, рибосоми, мезосоми, плазмід.
3. Хімічний склад і функції структурних компонентів бактеріальної клітини.
4. Поліморфізм бактерій. Властивості L-форм бактерій.
5. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження культур бактерій.
6. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
7. Прості методи забарвлення, їх методика.
8. Складні методи забарвлення. Метод Грама.
9. Механізми взаємодії барвників зі структурами бактеріальної клітини.
10. Фактори, що впливають на забарвлення бактерій за Грамом.

б) Перелік практичних навичок, якими необхідно оволодіти:

1. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження.
2. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
3. Забарвлення препаратів простими методами: водними розчинами фуксину та метиленового синього.
4. Забарвлення препаратів складним методом: забарвлення за Грамом.
5. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
6. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

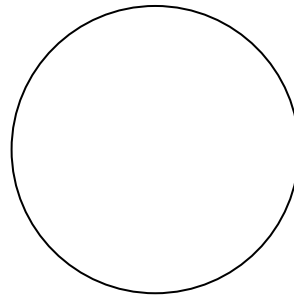
Література:

- 1) с. 23-31; 2) с. 31-32, 33-40, 28-29; 3) с. 19-26, 32-35; 4) с. 9-17; 5) с. 20-26; 6) с. 17, 19-25, 39-43, 113-114; 7) с. 27-38; 8) с. 23-32; 9) с. 17-27.

Протокол практичного заняття

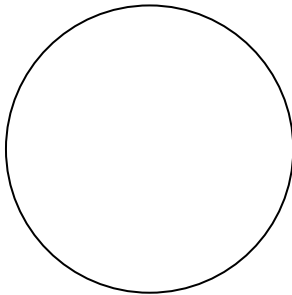
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Виготовити препарат для мікроскопічного дослідження культури бактерій з твердого живильного середовища. Забарвити водним розчином фуксину. Мікроскопіювати, замалювати.



(назвіть мікроорганізми з урахуванням їх форми та взаємного розташування клітин)

Завдання № 2: Виготовити мазок із мікробної асоціації бактерій, забарвити за методом Грама. Мікроскопіювати, замалювати.



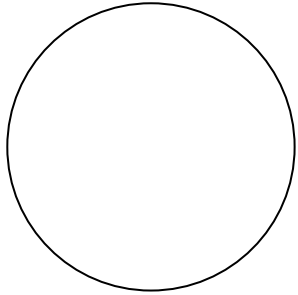
Етапи забарвлення за Грамом (модифікація Синьова):

1. Розчин генціанвіолету – 2 хв. (фільтрувальний папірець, просочений барвником і висушений).
2. Розчин Люголя – 1 хв.
3. Етиловий спирт-ректифікат – 30 сек.
4. Промити водою.
5. Фуксин Пфейффера – 2 хв.
6. Промити водою, висушити.
7. Мікроскопіювати.

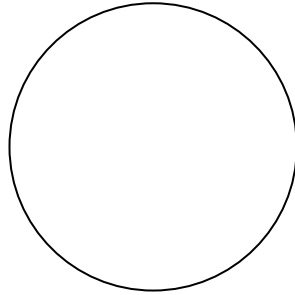
(назвіть виявлені мікроорганізми з урахуванням форми, взаємного розташування клітин та тинкторіальних властивостей)

Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати, які забарвлені простими і складними методами:

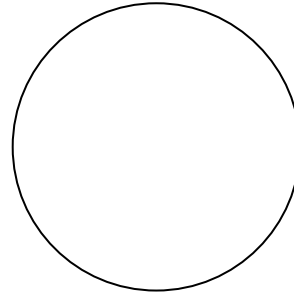
- 1) диплококи (забарвлення метиленовим синім),
- 2) вібріони (забарвлення фуксином),
- 3) стрептобацили (забарвлення за Грамом),
- 4) коки (забарвлення за Грамом).



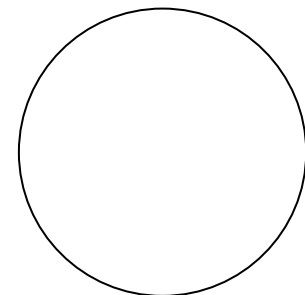
диплококи
(забарвлення метиленовим синім)



вібріони
(забарвлення фуксином)



стрептобацили
(забарвлення за Грамом)



коки
(забарвлення за Грамом)

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: Структура бактеріальної клітини: включення, капсула, джгутики. Методи їх виявлення. Методи виявлення спор та кислотостійких бактерій.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Включення: хімічний склад, функції, практичне значення. Методи виявлення включень.
2. Капсули бактерій: будова, хімічний склад, функціональне значення. Методи виявлення. Забарвлення за методом Гінса-Буррі.
3. Джгутики, війки: будова, розташування на поверхні бактеріальної клітини, функціональне значення. Методи виявлення джгутиків. Забарвлення за методом Леффлера.
4. Виявлення рухомості бактерій. Приготування препаратів "висяча" крапля та "роздавлена" крапля.
5. Будова, хімічний склад, динаміка утворення спор, функціональне значення. Патогенні спороутворюючі бактерії.
6. Фактори, що забезпечують високу стійкість мікроорганізмів до дії чинників зовнішнього середовища.
7. Забарвлення спор за методами Ожешко та Пешкова.
8. Кислотостійкі бактерії, особливості їх хімічного складу. Патогенні представники.
9. Метод забарвлення за Цілем-Нільсеном.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Виготовлення препаратів "роздавлена" крапля та "висяча" крапля для мікроскопічного дослідження.
2. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу (мокротиння).
3. Забарвлення препаратів складними методами (за Цілем-Нільсеном).
4. Мікроскопія препаратів у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
5. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

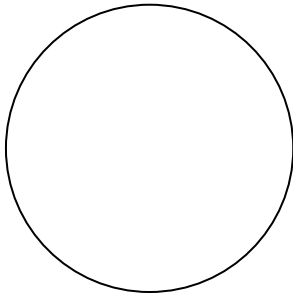
Література:

- 1) с. 28-29; 31-35, 38, 274; 2) с. 40-45, 438; 3) с. 35-42; 4) с. 35-42; 5) с. 23-24; 26-27; 36; 6) с. 17-19; 26; 38-38, 114-115, 502; 7) с. 29-31, 38-40, 347-348; 7) с. 29; 32-38, 343-344; 9) с. 27-28, 29-35.

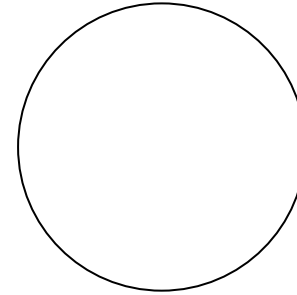
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання №1: Мікроскопіювати і замалювати зерна волютину в цитоплазмі коринібактерій дифтерії.

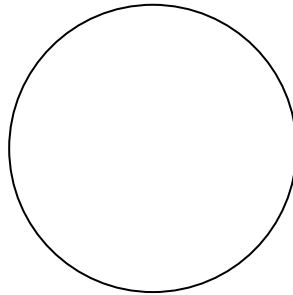


зерна волютину (зabarвлення за Леффлером)



зерна волютину (зabarвлення за Нейссером)

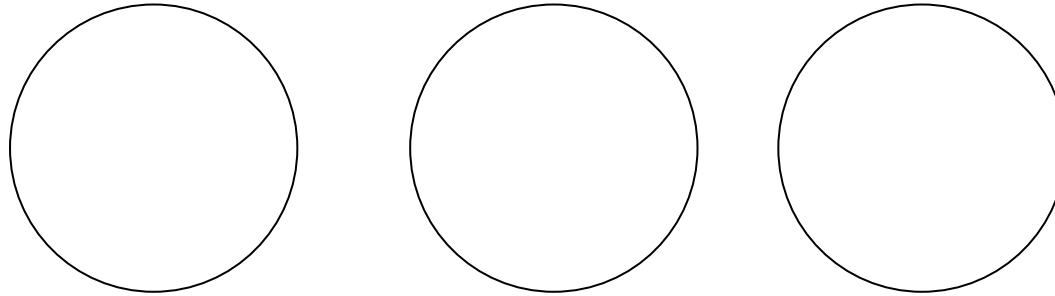
Завдання № 2: Мікроскопіювати і замалювати препарат капсульних бактерій.



капсули бактерій (зabarвлення за Гінсом-Буррі)

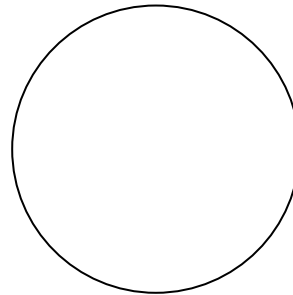
Завдання № 3: Виготовити препарат "висяча" крапля із одностодової культури холероподібного вібріона. Мікроскопіювати, виявити рухомість бактерій.

Завдання № 4: Мікроскопіювати та замалювати препарати спороутворюючих мікроорганізмів , які забарвлені за методами Ожешко, Пешкова, Грама



(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними ознаками, вкажіть метод забарвлення)

Завдання № 5: Виготувити препарат з мокротиння хворого, забарвити за Цілем-Нільсеном.
Мікроскопіювати, замалювати.



кислотостійкі бактерії

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 4

Тема: Морфологія і структура спірохет, актиноміцетів, грибів та найпростіших. Методи вивчення їх морфології.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Класифікація, морфологія та структура спірохет. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
2. Класифікація, морфологія та структура грибів. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
3. Актиноміцети, морфологія і структура. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
4. Класифікація, морфологія та структура найпростіших. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.

б) Перелік практичних навичок та вмінь , якими необхідно оволодіти:

1. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
2. Забарвлення препаратів складними методами (за Грамом).
3. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
4. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними та тинкторіальними ознаками.

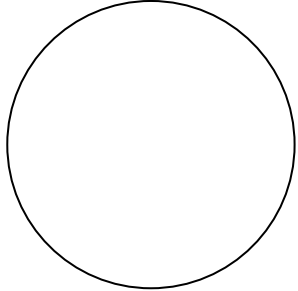
Література:

- 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. 27-32; 4) с. 15-16; 18-19; 171-172; 177-178; 180-181; 252-254; 272-280; 5) с. 28-30; 249; 252-254; 6) с. 475-476; 485-486; 492; 851-855; 903-906; 7) с. 40-41; 440-445; 463; 354-358; 8) с.354- 359; 446-447;464; 476; 486; 9) с. 38-40; 45-53.

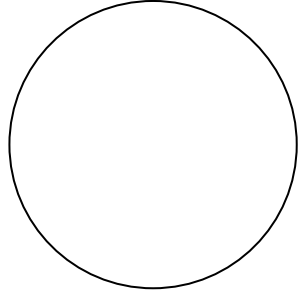
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

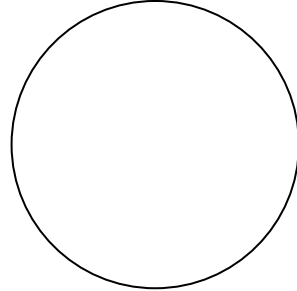
Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати препарати грибів і актиноміцетів.



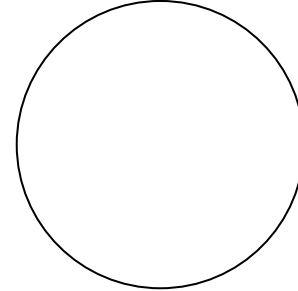
Цвільовий гриб
роду *Mucor*



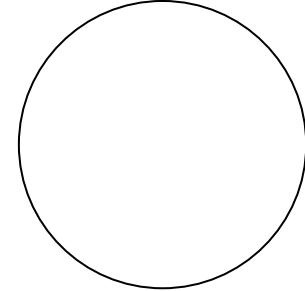
Цвільовий гриб
роду *Aspergillus*



Цвільовий гриб
роду *Penicillium*



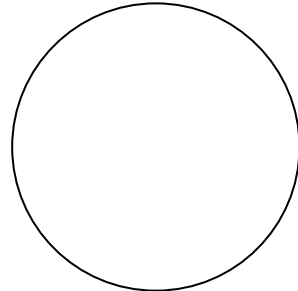
Дріжджеподібні гриби
роду *Candida*



Актиноміцети

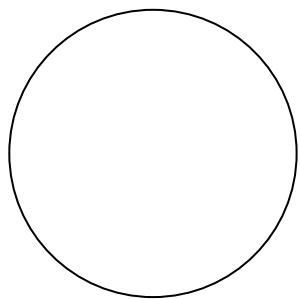
(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними і тинкторіальними властивостями)

Завдання № 2: Виготовити препарат із зубного нальоту за методом Буррі. Мікроскопіювати і замалювати.

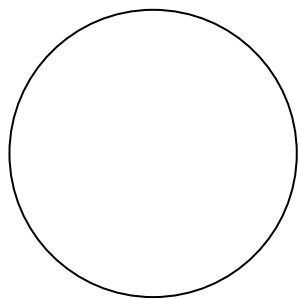


спірохети у зубному нальоті

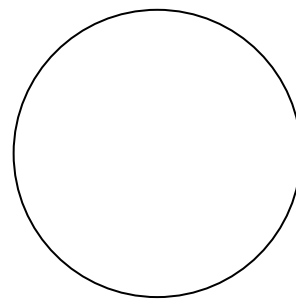
Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати найпростіших: 1) трипаносоми, 2) трихомонади, 3) лейшманії, 4) малярійний плазмодій.



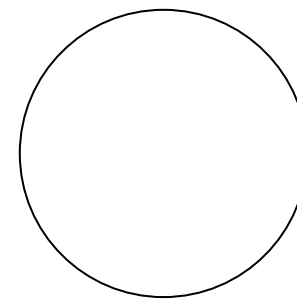
трипаносоми
(забарвлення за
Романовським-Гімза)



трихомонади
(забарвлення
метиленовим синім)



лейшманії
(забарвлення за
Романовським-Гімза)



малярійний плазмодій
(забарвлення за
Романовським-Гімза)

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: Морфологія та структура рикетсій, хламідій, мікоплазм і вірусів. Методи їх виявлення.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Класифікація, морфологія та структура рикетсій. Методи їх виявлення.
2. Хламідії і мікоплазми: морфологія і структура. Методи їх виявлення.
3. Принципи класифікації вірусів.
4. Морфологія та структура вірусів. Типи симетрії нуклеокапсидів.
5. Хімічний склад вірусів. Ферменти вірусів, їх роль.
6. Методи виявлення вірусів.
7. Поняття про віроїди і пріони. Фізико-хімічні властивості. Механізм утворення.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

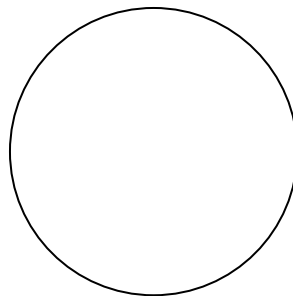
1. Визначення наявності вірусу у культурах клітин та досліджуваному матеріалі.
2. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

- 1) с. 38 - 40; 43-45; 316-317; 326-332; 2) с. 239 - 243; 247-250; 448;464-477; 3) с. 29-31; 4) с. 18-19; 205-206; 5) с. 30 - 36; 6) с. 540-542; 659-661; 667-672; 7) с. 43 - 45; 72 - 79; 381-388; 8) с. 38 - 41; 45 - 46; 374-375;386-406; 9) с. 41 - 45.

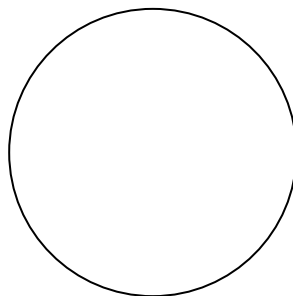
Протокол практичного заняття
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати рикетсії у препараті, який забарвлений за Здродовським.



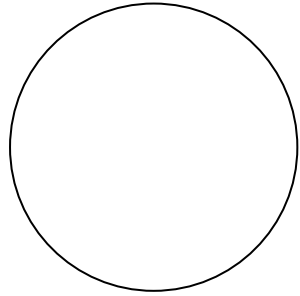
(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними ознаками)

Завдання № 2: Мікроскопіювати і замалювати включення хламідій у інфікованих клітинах (забарвлення за Романовським-Гімза).

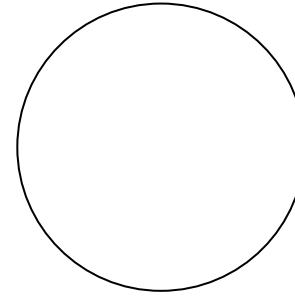


(позначити інфіковані клітини)

Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати включення в нервових клітинах за умов сказу (тільца Бабеша- Негрі)
та в епітеліальних клітинах за умов грипу.



Включення в нервових клітинах за умов сказу
(забарвлення за Туревичем)



Включення в епітеліальних клітинах за умов грипу
(забарвлення за Романовським-Гімза)

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: Морфологія та структура мікроорганізмів, що входять до складу нормальної мікрофлори порожнини рота.
Мікроскопічний метод дослідження в стоматології.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік контрольних питань:

1. Кокові форми бактерій, що входять до складу нормальної мікрофлори порожнини рота, їх морфологія та структура, тинкторіальні властивості.
2. Паличкоподібні форми бактерій, що входять до складу нормальної мікрофлори порожнини рота, їх морфологія та структура, тинкторіальні властивості.
3. Звивисті форми бактерій, що входять до складу нормальної мікрофлори порожнини рота, їх морфологія та структура, тинкторіальні властивості.
4. Нитчасті та розгалужені форми бактерій, що входять до

складу нормальної мікрофлори порожнини рота, їх морфологія та структура, тинкторіальні властивості.
5. Мікроскопічний метод дослідження в стоматології.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними та тинкторіальними ознаками.
2. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

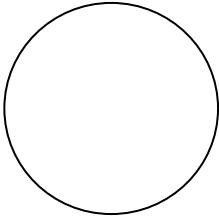
- 1) с. 425-427; 2) с. 530-536; 3) с. 96-97; 7) с. 489-490; 8) с. 488-490; 9) с. 20-25, 107-110.

Протокол практичного заняття

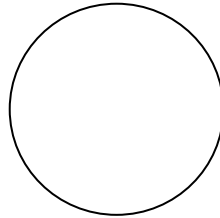
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати препарати бактерій, що виявляються у складі мікрофлори порожнини рота (забарвлення за Грамом).

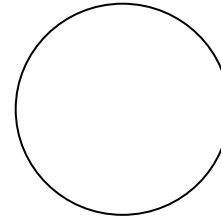
Кокові форми:



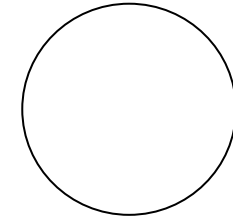
а) вейлонели



б) стрептококи

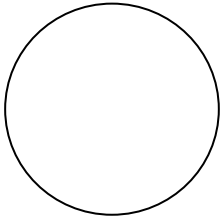


в) стафілококи

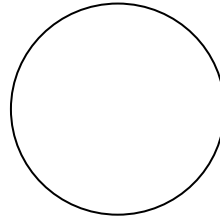


г) мікрококи

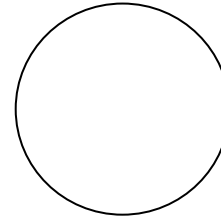
Паличкоподібні форми:



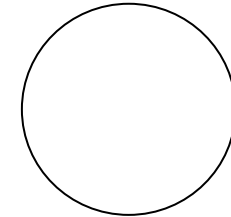
а)фузобактерії



б) лактобактерії

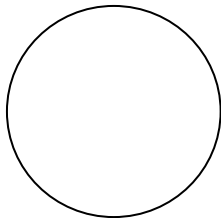


в) бактероїди

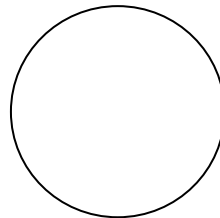


г) превотели

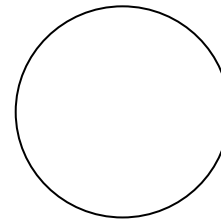
Звивисті форми:



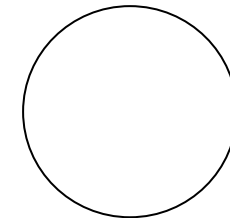
а) кампілобактерії



б) спірили

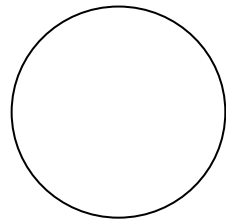


в) спірохети

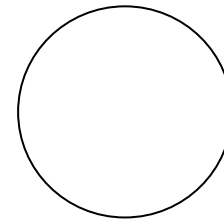


г) вібріони

Нитчасті та розгалужені форми:

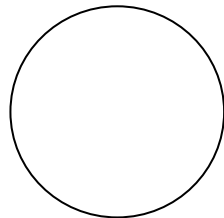


а) лептотрихи

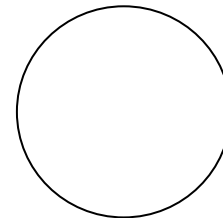


б) актиноміцети

Завдання № 2: Мікроскопіювати і замалювати препарати грибів, що виявляються у складі мікрофлори порожнини рота (забарвлення за Грамом).



а) дріжджі



б) дріжджеподібні гриби роду *Candida*

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 7

Тема: Підсумкове заняття "Морфологія мікроорганізмів".

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік контрольних питань:

1. Предмет і задачі медичної мікробіології. Значення мікробіології в діяльності лікаря.
2. Призначення, обладнання та організація роботи мікробіологічної лабораторії.
3. Правила роботи та техніка безпеки у мікробіологічній лабораторії.
4. Мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів: імерсійна, фазовоконтрастна, темнопольна, люмінесцентна, електронна мікроскопія.
5. Будова світлового мікроскопа.
6. Правила мікроскопії у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
7. Класифікація мікроорганізмів за формою, кількістю і взаємним розташуванням клітин.
8. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження культур бактерій.
9. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
10. Прості методи забарвлення, їх методика.
11. Структура бактеріальної клітини. Клітинна стінка, периплазма, цитоплазматична мембрана, цитоплазма, нуклеоїд, рибосоми, мезосоми, плазміді.
12. Хімічний склад і функції структурних компонентів бактеріальної клітини.
13. Поліморфізм бактерій. Властивості L-форм бактерій.
14. Складні методи забарвлення. Метод Грама.
15. Механізми взаємодії барвників зі структурами бактеріальної клітини.
16. Фактори, що впливають на забарвлення бактерій за Грамом.
17. Включення: хімічний склад, функції, практичне значення. Методи виявлення включень.
18. Капсули бактерій: будова, хімічний склад, функціональне значення. Методи виявлення. Забарвлення за методом Гінса-Буррі.
19. Джгутики, війки: будова, розташування на поверхні бактеріальної клітини, функціональне значення. Методи виявлення джгутиків. Забарвлення за методом Леффлера.
20. Виявлення рухомості бактерій. Приготування препаратів "висяча" крапля та "роздавлена" крапля.
21. Будова, хімічний склад, динаміка утворення спор, функціональне значення. Патогенні спороутворюючі бактерії.
22. Фактори, що забезпечують високу стійкість мікроорганізмів до дії чинників зовнішнього середовища.
23. Забарвлення спор за методами Ожешко та Пешкова.
24. Кислотостійкі бактерії, особливості їх хімічного складу. Патогенні представники.
25. Метод забарвлення за Цілем-Нільсеном.
26. Класифікація, морфологія та структура спірохет.

- Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
- вивчення їх морфології. Патогенні представники.
28. Актиноміцети, морфологія і структура. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
29. Класифікація, морфологія та структура найпростіших. Методи вивчення їх морфології. Патогенні представники.
30. Класифікація, морфологія та структура рикетсій. Методи їх виявлення. Патогенні представники.
31. Хламідії і мікоплазми: морфологія і структура. Методи їх виявлення.
32. Принципи класифікації вірусів.
33. Морфологія та структура вірусів. Типи симетрії нуклеокапсидів.
34. Хімічний склад вірусів. Ферменти вірусів, їх роль.
35. Методи виявлення вірусів.
36. Поняття про віроїди і пріони. Фізико-хімічні властивості. Механізм утворення.

27. Класифікація, морфологія та структура грибів. Методи

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно володіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки у мікробіологічній лабораторії.
2. Мікроскопія препаратів у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
3. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
4. Забарвлення препаратів простими методами: водними розчинами фуксину та метиленового синього.
5. Забарвлення препаратів складними методами: за Грамом, Цілем-Нільсеном, Леффлером, Романовським-Гімза.
6. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними та тинкторіальними ознаками.

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 8

Тема: Культивування бактерій, живильні середовища. Методи стерилізації, дезінфекції. Методи виділення чистих культур аеробних бактерій (1-й етап дослідження). Бактеріологічний (культуральний) метод діагностики інфекційних захворювань.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Правила роботи з бактеріальними культурами і техніка безпеки в бактеріологічній лабораторії.
2. Живлення мікроорганізмів, класифікація за типом живлення. Механізми переносу поживних речовин в бактеріальну клітину.
3. Культивування бактерій. Живильні середовища, класифікація за призначенням, консистенцією, походженням та кількістю складових частин.
4. Стерилізація. Методи стерилізації, оцінка стерилізації.
5. Асептика, антисептика, дезінфекція.
6. Бактеріологічний (культуральний) метод діагностики інфекційних захворювань.
7. Мішані та чисті культури бактерій. Виділення чистих культур аеробних бактерій (1-й етап).

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і

техніки безпеки в бактеріологічній лабораторії.

2. Знезаражування інфікованого матеріалу, антисептична обробка рук, контамінованих досліджуваним матеріалом або культурою мікробів.
3. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
4. Забарвлення препаратів складним методом (за Грамом).
5. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
6. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними та тинкторіальними ознаками.
7. Посів досліджуваного матеріалу тампоном, піпеткою і петлею на тверді, напіврідкі та рідкі живильні середовища.
8. Вміти готувати до стерилізації посуд, живильні середовища.

Література:

1) с. 46-48; 50-55; 64-68; 95-96; 2) с. 46-55; 78-80; 3) с. 45-61; 4) с. 25-26; 5) с. 36-52; 6) с. 23; 26-28; 34; 113; 120-122; 137-145; 7) с. 48-53; 69-71; 141-144; 8) с. 47-51; 54-58; 70-75; 9) с. 54-77; 93-94.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Ознайомитись з апаратурою, що використовується для стерилізації. Результати занести до таблиці.

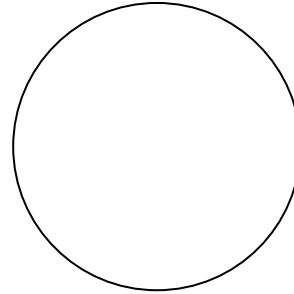
Вид стерилізації	Апаратура	Режим стерилізації	Об'єкти, які підлягають стерилізації	Результати
Прожарювання	Полум'я			
Кип'ятіння	Стерилізатор			
Сухим жаром	Піч Пастера			
Парою під тиском	Автоклав			
Пастеризація	Водяна баня			
Тиндалізація	Водяна баня			
Текучою парою	Апарат Коха, автоклав			
Фільтрування	Фільтр Зейтца			
Ультрафіолетовими променями	Бактерицидна лампа			
Гамма-випромінювання	У виробничих умовах			

Завдання № 2: Ознайомитись з різновидами живильних середовищ, які застосовують для культивування бактерій. Результати занести до

таблиці, вказати їх вид і призначення.

Вид живильного середовища	Призначення	Приклади живильних середовищ
		МПБ, МПА
		Цукровий МПБ, сироватковий МПБ, кров'яний МПА, асцитичний МПА, середовище Кітта-Тароцці
		Середовища Гісса, МПЖ, Ендо, Левіна, Ресселя, Олькеницького
		Жовчний МПБ, лужна пептонна вода, лужний МПА, середовища Аронсона, Плоскі рева, кров'яно-телуритовий агар
		Гліцеринова суміш

Завдання № 3: Виготовити препарат з патологічного матеріалу від хворого на катаральний стоматит, забарвити за Грамом, мікроскопіювати та замалювати.



(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Завдання № 4: Посіяти патологічний матеріал на чашку Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) за секторним методом (метод Голда) з метою отримання ізольованих колоній.

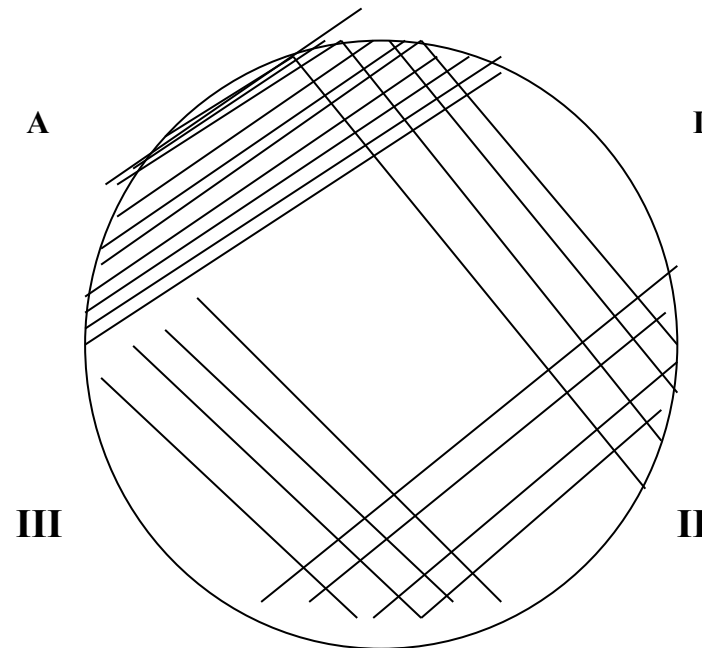


Схема посіву

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 9

Тема: Виділення чистих культур аеробних бактерій (2-й етап дослідження). Культуральні властивості бактерій.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Ріст та розмноження мікроорганізмів. Вегетативні форми та форми спокою мікробів.
2. Фази розмноження мікробів у рідкому живильному середовищі в стаціонарних умовах.
3. Колонії, особливості їх формування у різних видів бактерій. Пігментоутворення.
4. Виділення чистих культур аеробних бактерій (2-й етап дослідження).

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки в бактеріологічній лабораторії.
2. Посів патологічного матеріалу петлею на щільні живильні середовища.

3. Знезаражування інфікованого матеріалу, антисептична обробка рук, контамінованих досліджуваним матеріалом або культурою мікробів.
4. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження.
5. Забарвлення препаратів складним методом (за Грамом).
6. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
7. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

Література:

- 1) с.61-64; 59; 60; 67; 2) с.76-78; 80-83; 3) с. 64-66; 4) с.26-27; 5) с.50-54; 6) с.34-37; 61; 122-123; 7) с.63-69; 8) с. 64; 66-70; 73-74; 9) с. 77-78.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Ознайомитися з культуральними властивостями різних видів мікроорганізмів:

- а) холерний вібріон у лужній пептонній воді; б) стрептокок у цукровому м'ясо-пептонному бульйоні (цукровий МПБ);
- в) лептоспіри у середовищі Уленгута; г) стафілокок у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ).

Замалювати і вказати характер росту мікроорганізмів у рідкому живильному середовищі.



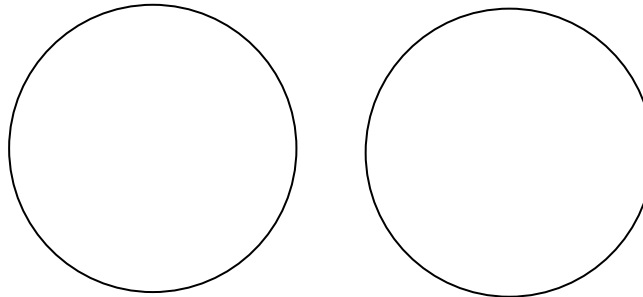
Завдання № 2: Опишіть культуральні властивості бактерій, враховуючи характер росту ізольованих колоній на твердому живильному середовищі (заповніть таблицю).

Культуральні властивості	Колонія №1	Колонія №2
Дослідження в прохідному світлі		
Розмір (діаметр)		
Форма обрисів		
Ступінь прозорості		
Дослідження у відбитому світлі		
Колір колонії		
Характер поверхні		
Положення на живильному середовищі		
Мікроскопічне дослідження		
Характер краю		
Структура		
Інші культуральні властивості		
Консистенція		

Завдання № 3: Виготовити препарати із вивчених ізолюваних колоній № 1 - 2, виділеної від хворого на катаральний стоматит, забарвити за Грамом, мікроскопіювати та замалювати.

колонія № 1

колонія № 2



(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Завдання № 4: Пересіяти ізолювані колонії № 1 і № 2 на скошений МПА з метою накопичення чистих культур бактерій.

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 10

Тема: Виділення чистих культур аеробних бактерій (3-й та 4-й етапи дослідження).
Методи вивчення ферментативної активності бактерій.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Ферменти бактерій і їх класифікація.
2. Методи вивчення ферментативної активності бактерій та використання їх для ідентифікації бактерій.
3. Диференційно-діагностичні живильні середовища, їх склад та призначення.
4. Способи ідентифікації виділених культур. Поняття про серовари, морфовари, біовари, фаговари.
5. Сучасні методи ідентифікації бактерій за допомогою автоматизованих ферментних систем ідентифікації.
6. Виділення чистих культур аеробів (3-й та 4-й етапи).

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки в бактеріологічній лабораторії.

2. Знезараження інфікованого матеріалу, антисептична обробка рук, контамінованих досліджуваним матеріалом або культурою мікробів.
3. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження.
4. Забарвлення препаратів складним методом (за Грамом).
5. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом
6. Посів досліджуваного матеріалу петлею і піпеткою на тверді, напіврідкі та рідкі живильні середовища.
7. Виділення чистих культур аеробних мікроорганізмів.

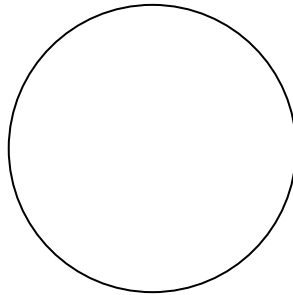
Література:

- 1) с. 49-50; 55-56; 66; 2) с.54-55; 3) с. 66-70; 4) 27-29; 5) с. 46-47; 52; 54-56; 6) с. 28-34; 121-123; 125; 7) с.53-56; 69-71; 8) с. 51-59; 72; 113-114; 9) с.81-84.

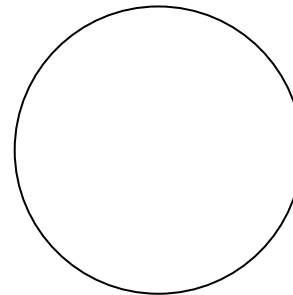
Протокол практичного заняття
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Виготовити препарати з чистих культур бактерій, виділених від хворого на катаральний стоматит, забарвити за Грамом, мікроскопіювати та замалювати.

№1:



№2:

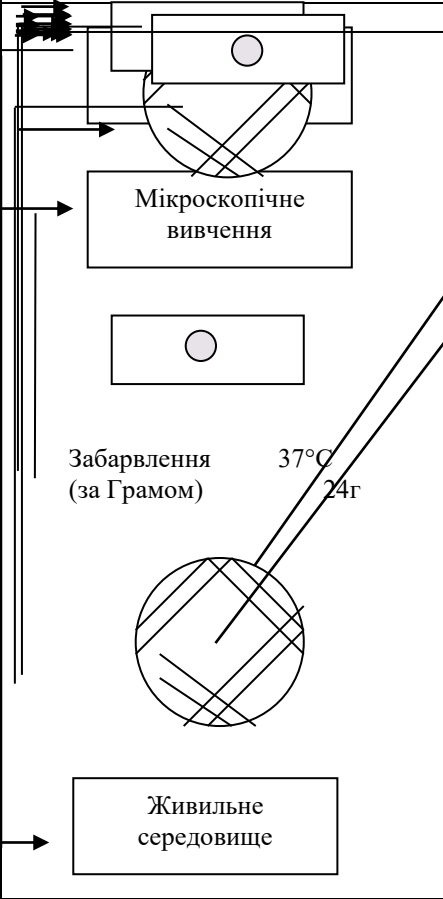
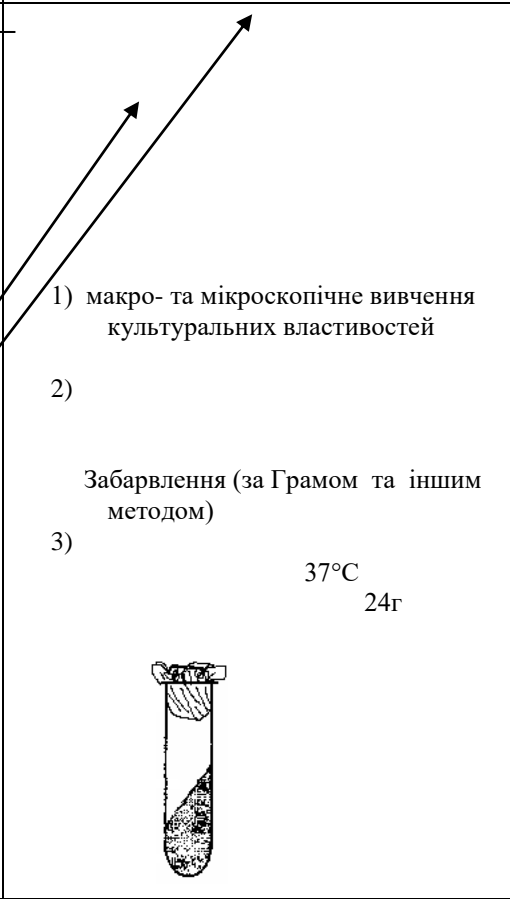
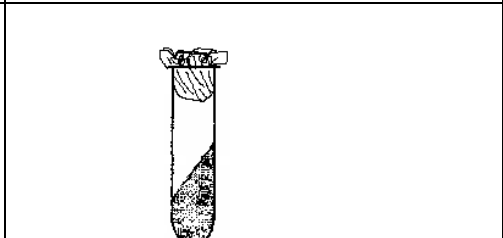


(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей, оцінка чистоти культури)

Завдання № 2: Пересіяти чисті культури у м'ясо-пептонний бульйон, м'ясо-пептонний желатин, молоко та середовища короткого строкатого ряду для вивчення ферментативної активності бактерій.

Завдання № 3: Посіяти досліджуваний матеріал з кореневого каналу від хворого з апікальним періодонтитом у середовище Кітта-Тароцці.

Завдання №4: Вивчити схему етапів виділення чистої культури аеробних бактерій, вказати мету кожного етапу.

I етап	II етап	III етап	IV етап
 <p>Мікроскопічне вивчення</p> <p>Забарвлення (за Грамом) 37°C 24г</p> <p>Живильне середовище</p>	 <p>1) макро- та мікроскопічне вивчення культуральних властивостей</p> <p>2)</p> <p>3)</p> <p>Забарвлення (за Грамом та іншим методом)</p> <p>37°C 24г</p>	 <p>1) Оцінка чистоти культури: а) макроскопічно б) мікроскопічно</p> <p>Забарвлення (за Грамом)</p> <p>2) Посів на диференційно-діагностичні середовища</p> <p>3) Зараження лабораторних тварин, вивчення токсиноутворення</p> <p>4) Постановка серологічних реакцій з діагностичними сироватками</p> <p>5) Постановка антибіотикограми</p> <p>6) Вивчення чутливості до фагів</p>	<p>Облік вивчених властивостей:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Морфологічні 2) Тинкторіальні 3) Культуральні 4) Біохімічні (ферментативні) 5) Біологічні (токсигенність, вірулентність, ін.) 6) Антигенні 7) Фаголізальні 8) Чутливість до антибіотиків
<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 11

Тема: Методи виділення чистих культур анаеробних бактерій (1-5 етапи дослідження). Бактеріологічний метод дослідження в стоматології.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Дихання мікроорганізмів. Типи дихання.
2. Способи створення анаеробних умов культивування бактерій.
3. Живильні середовища для культивування анаеробів.
4. Виділення чистих культур анаеробних бактерій (1-5 етапи дослідження).
5. Роль бактеріологічного методу дослідження у диференційній діагностиці стоматологічних захворювань.
6. Особливості забору матеріалу для бактеріологічного дослідження в стоматологічній практиці (за умов карієсу, стоматиту, періодонтиту та ін.).
7. Принципи підбору живильних середовищ для культивування мікроорганізмів – збудників стоматологічних захворювань.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки в бактеріологічній лабораторії.

2. Знезараження інфікованого матеріалу, антисептична обробка рук, контамінованих досліджуваним матеріалом або культурою мікробів.
3. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження.
4. Забарвлення препаратів складним методом (за Грамом).
5. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
6. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними та тинкторіальними ознаками.
7. Посів досліджуваного матеріалу петлею та піпеткою на тверді, напіврідкі та рідкі живильні середовища.
8. Виділення чистих культур аеробних та анаеробних бактерій, здійснення ідентифікації за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, ферментативними властивостями.

Література:

- 1) с. 56-59; 2) с.66-72; 3) с.71-75; 4) с.52-56; 5) с. 28; 120-123; 28-30; 6) с. 56-62; 7) с. 59-64; 70-75; 8) с. 79-84; 9) с. 110-113.

Протокол практичного заняття
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Провести облік ферментативних властивостей виділених чистих культур аеробних бактерій.

Культура бактерій	Лактоза	Глюкоза	Сахароза	Мальтоза	Маніт	МПЖ	Молоко	Індол	H ₂ S
№1									
№2									

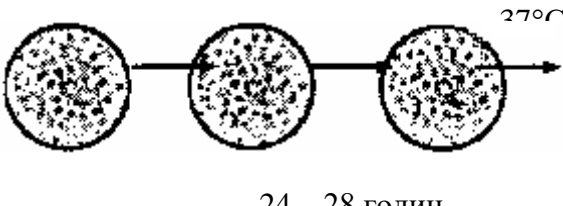
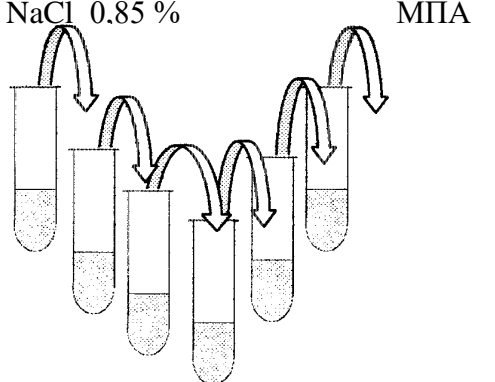
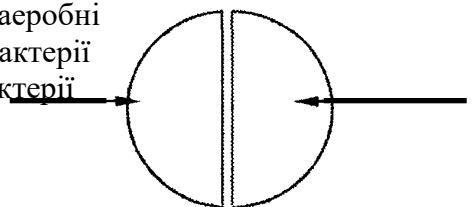
Заповніть таблицю. Вкажіть характер розщеплення вуглеводів (до кислоти – “К” чи до кислоти та газу - “КГ”).

Завдання № 2: Ідентифікувати виділені чисті культури бактерій до роду за вивченими властивостями.

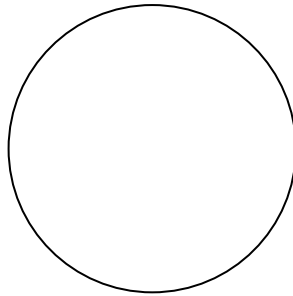
Властивості	Культура № 1	Культура № 2
Морфологічні		
Тинкторіальні		
Культуральні		
Ферментативні		
Висновок	Рід	Рід

Завдання № 3: Ознайомитись з апаратурою, яка використовується для культивування анаеробних бактерій.

Завдання № 4: Вивчити способи одержання ізольованих колоній анаеробних бактерій за Цейслером, Вейнбергом, Фортнером. Зазначити назву методу.

1)	<p>Метод: _____</p>  <p>24 – 28 годин</p>	<p>Послідовний розподіл суміші бактерій скляним шпателем по поверхні кров'яного цукрового агару у 3-х чашках Петрі. Посіви вміщують у анаеростат або інші прилади.</p>
2)	<p>Метод: _____</p>  <p>NaCl 0.85 % МПА</p>	<p>Культуру із середовища беруть пастерівською піпеткою із запаяним кінцем і послідовно переносять у 1-у, 2-у, 3-тю пробірки із 10 мл 0,85 % розчину хлориду натрію і надалі у 4-у, 5-у, 6-у пробірки із розплавленим та охолодженим до 50°C м'ясо-пептонним агаром. Посіви ставлять у термостат.</p>
3)	<p>Метод: _____</p> <p>аеробні анаеробні бактерії бактерії</p> 	<p>У живильному середовищі в чашці Петрі вирізають смужку агару. На одну половину чашки сіють стандартну культуру аеробних бактерій, на іншу – досліджувану культуру анаеробів. Чашку Петрі закривають, герметизують розплавленим парафіном і після його охолодження ставлять чашку у термостат.</p>

Завдання № 5: Виготовати препарати з культур бактерій, що вирости у середовищі Кітта-Тароці, забарвити за Грамом, мікроскопіювати, та замалювати.



(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Завдання № 6: Вивчити схему виділення чистої культури анаеробних бактерій. Вказати мету кожного етапу.

I	II	III	IV	V
<p>1) Гірвинна мікроскопія</p> <p>Забарвлення (за Грамом)</p> <p>Живильне середовище (Середовище Кітта-Тароцці)</p> <p>37°C 24г</p> 	<p>1) макроскопічне вивчення</p> <p>2) мікроскопічне вивчення</p> <p>Забарвлення за Грамом та іншим методом 37°C 24г</p> 	<p>1) макро- та мікроскопічне вивчення культуральних властивостей</p> <p>2) Забарвлення за Грамом та іншим методом 37°C 24г</p>  <p>3) Середовище Кітта-Тароцці</p>	<p>1) Оцінка чистоти культури:</p> <p>а) макроскопічно</p> <p>б) мікроскопічно</p> <p>2) Посів на диференційно-діагностичні середовища</p> <p>3) Зараження лабораторних тварин, вивчення токсинуутворення</p> <p>4) Постановка серологічних реакцій з діагностичними сироватками</p> <p>5) Постановка антибіотикограми</p> <p>6) Вивчення чутливості до фагів</p> 	<p>Облік вивчених властивостей:</p> <p>1) Морфологічні</p> <p>2) Тинкторіальні</p> <p>3) Культуральні</p> <p>4) Біохімічні (ферментативні)</p> <p>5) Біологічні (токсигенність, вірулентність, ін)</p> <p>6) Антигенні</p> <p>7) Фаголізабельні</p> <p>8) Чутливість до антибіотиків</p>
<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>	<p>Мета:</p>

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 12

Тема: Мікробіологічні основи антимікробної хіміотерапії. Принципи антимікробної хіміотерапії в стоматології.
Антибіотики. Бактеріофаги.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Поняття про хіміотерапевтичні препарати. Хіміотерапевтичний індекс.
2. Явище антагонізму у мікробів. Антибіотики, визначення, поняття.
3. Класифікація антибіотиків за походженням, спектром дії, за характером антимікробної дії та механізмом дії.
4. Одиниці вимірювання антимікробної активності антибіотиків.
5. Методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків: метод стандартних дисків та метод серійних розведень.
6. Застосування хіміотерапевтичних препаратів при стоматологічних захворюваннях: антибактеріальні (в тому числі антианаеробні та остеотропні), протигрибкові, антивірусні.
7. Ускладнення антибіотикотерапії. Дисбактеріози та їх профілактика.
8. Природна та набута стійкість мікроорганізмів до антибіотиків. Генетичні та біохімічні механізми антибіотикорезистентності. Роль плазмід та транспозонів у формуванні лікарської стійкості у бактерій.
9. Шляхи попередження формування резистентності у

бактерій до антибіотиків. Принципи раціональної антибіотикотерапії.

10. Морфологія, структура та хімічний склад бактеріофагів.
11. Вірулентні та помірні бактеріофаги. Стадії продуктивного типу взаємодії бактеріофагів з бактеріальними клітинами.
12. Лізогенія та фагова конверсія.
13. Специфічність дії бактеріофагів.
14. Практичне використання бактеріофагів в мікробіології та медицині з метою ідентифікації бактерій, профілактики та терапії інфекційних захворювань, оцінки мікробного забруднення довкілля.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Визначати чутливість мікроорганізмів до антибіотиків.
2. Вміти визначати фаготип бактерій.

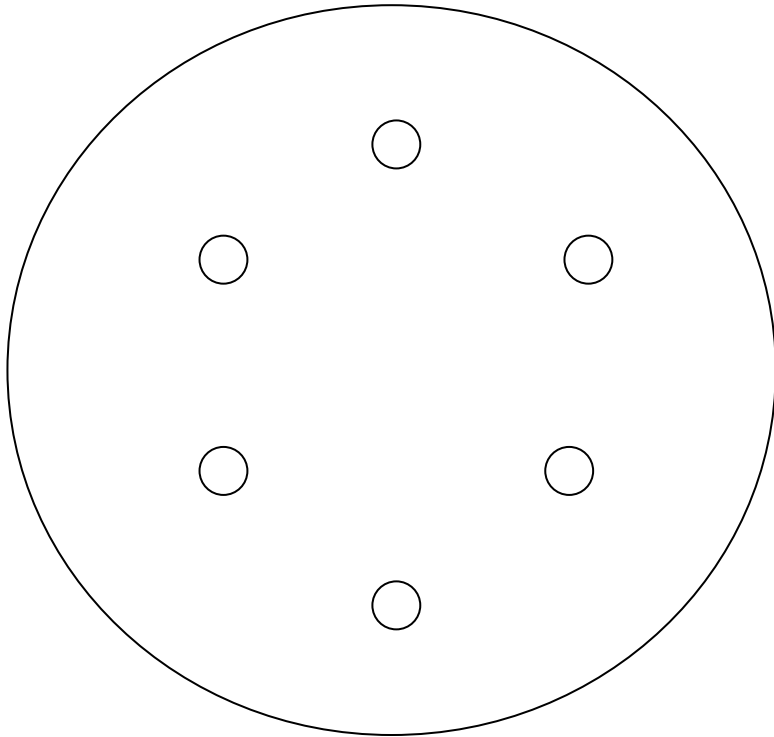
Література:

- 1) с.187 – 195, 332-335; 2) с.135 – 147, 254-260; 3) с. 75-76, 113-124; 4) с. 31 - 34; 5) с.75 – 78, 63-68; 6) с.145 – 164, 61-65; 7) с.230 – 252, 87-94; 8) с.217 – 226, 102-108; 9) с.118 -121, 106-110.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Провести облік чутливості чистої культури стрептококу до антибіотиків, визначеної методом стандартних дисків. Позначити на малюнку зони затримки росту. Результати занести до таблиці (облік антибіотикограми). Зробити висновок.



№	Назва антибіотика	Діаметр зони затримки росту (мм)	Чутливість
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

Висновок:

Завдання № 2: Визначити мінімальну пригнічуючу концентрацію цефазоліну для культури стафілокока. Зробити висновок.

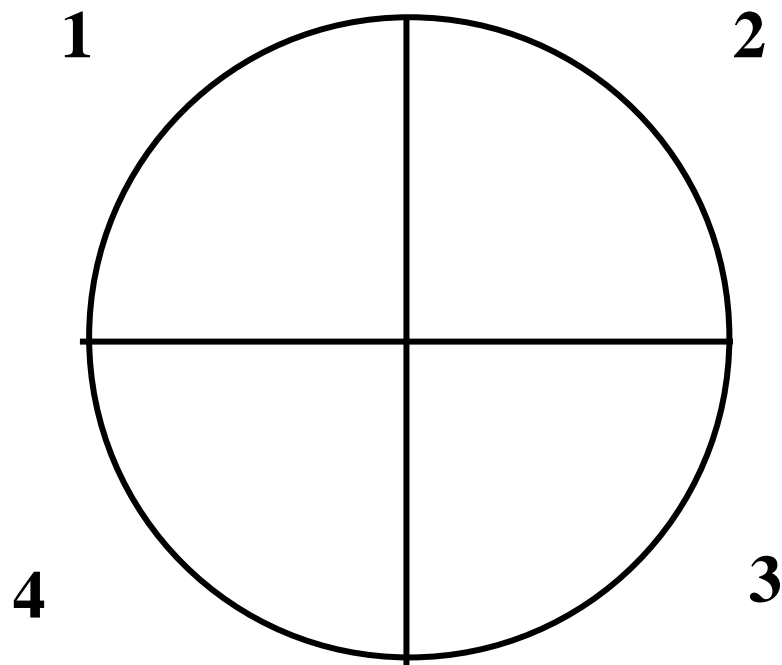
№ пробірок	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Інгредієнти									контроль культури	контроль антибіотика
МПБ	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
Розчин антибіотика 16 мкг/мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	0,5
Бульонна культура бактерій	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	—
Концентрація антибіотика мкг/мл	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	—	8
Облік										

“+”-наявність росту

“-”-відсутність росту

Висновок

Завдання № 3: Визначити мінімальну бактерицидну концентрацію цефазоліну для культури стафілокока. Позначити на малюнку наявність росту бактерій (пересів у сектори здійснено з пробірок 1, 2, 3, 4 – див. завдання №2). Зробити висновок.



Висновок: _____

Завдання № 4: Провести облік результатів титрування кишкового бактеріофагу у воді відкритої водойми

за методом Аппельмана.Зробити висновок.

№ п/п Інгредієнти (мл)											11	12
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Контроль фагу	Контроль культури
М'ясо-пептонний бульйон	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Досліджуваний 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
Бульйонна культура бактерій	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-	0,05
Розведення	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹	-
Облік результатів												

0,5мл

" + " - наявність лізису; "-" - відсутність лізису.

Висновок: _____

Завдання № 5: Провести облік результатів фаготипування чистої культури стафілококу. Результати занести до таблиці, зробити висновок.

Типуючі фаги	Наявність зони лізису
3A	
3B	
3C	
55	
71	

“+” - наявність лізису “-“ - відсутність лізису

Висновок: _____

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 13

Тема: Підсумкове заняття "Фізіологія і біохімія мікроорганізмів. Антибіотики та бактеріофаги".

1. Живлення бактерій. Джерела азоту, вуглецю, мінеральних речовин та ростових факторів.
2. Класифікація бактерій за типом живлення. Голофітний спосіб живлення. Механізми переносу поживних речовин в бактеріальну клітину.
3. Дихання бактерій. Аеробний та анаеробний спосіб окислення. Аероби, анаероби, факультативні анаероби, мікроаерофіли, капнічні бактерії.
4. Конститутивні та індуктивні ферменти бактерій. Екзо- та ендоферменти.
5. Методи вивчення ферментативної активності бактерій та використання їх для ідентифікації бактерій.
6. Сучасні методи ідентифікації бактерій за допомогою автоматизованих ферментних систем ідентифікації.
7. Використання бактерій та їх ферментів у біотехнології для одержання амінокислот, вітамінів, гормонів, пептидів, органічних кислот, антибіотиків, кормових білків, обробки харчових та промислових продуктів, біологічної очистки стічних вод, одержання рідкого та твердого палива.
8. Ріст та розмноження мікробів. Вегетативні форми та форми спокою мікробів.
9. Простий поділ. Фрагментація.
10. Фази розмноження мікроорганізмів у рідкому живильному середовищі в стаціонарних умовах.
11. Культуральні властивості бактерій.
12. Основний принцип культивування бактерій. Живильні середовища. Вимоги до живильних середовищ.
13. Виділення чистих культур анаеробних та аеробних бактерій.
14. Способи ідентифікації виділених культур. Додаткове вивчення властивостей, необхідних для лікування та епідеміологічних цілей.
15. Бактеріологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань.
16. Стерилізація. Методи стерилізації.
17. Асептика, антисептика, дезінфекція.
18. Поняття про хіміотерапевтичні препарати. Хіміотерапевтичний індекс.
19. Антибіотики, визначення, поняття.
20. Одиниці вимірювання антимікробної активності антибіотиків.
21. Класифікація антибіотиків за походженням, спектром дії, за характером антимікробної дії та механізмом дії.
22. Методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків: метод стандартних дисків та метод серійних розведень.
23. Ускладнення антибіотикотерапії. Дисбактеріози та їх профілактика.
24. Природна та набута стійкість мікроорганізмів до антибіотиків. Генетичні та біохімічні механізми антибіотикорезистентності. Роль плазмід та транспозонів у формуванні лікарської стійкості у бактерій.
25. Шляхи попередження формування резистентності у бактерій до антибіотиків.

26. Морфологія, структура та хімічний склад бактеріофагів.

27. Вірулентні та помірні бактеріофаги. Стадії взаємодії бактеріофагів з клітинами.

28. Лізогенія та фагова конверсія.

29. Специфічність дії бактеріофагів.

30. Практичне використання бактеріофагів в мікробіології та медицині з метою ідентифікації бактерій, профілактики та терапії інфекційних захворювань, оцінки мікробного забруднення довкілля.

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 14

Тема: Вчення про інфекційний процес. Біологічний метод дослідження. Застосування біологічного методу в діагностиці захворювань порожнини рота.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Визначення поняття "інфекція", "інфекційний процес", "інфекційна хвороба".
2. Умови виникнення інфекційного процесу.
3. Роль мікроорганізмів в інфекційному процесі. Патогенність, вірулентність. Одиниці вірулентності.
4. Фактори патогенності мікроорганізмів: адгезини, інвазини, ферменти патогенності, структури і речовини бактерій, які пригнічують фагоцитоз, ендотоксини, білкові токсини (екзотоксини).
5. Патогенні властивості рикетсій, хламідій, мікоплазм, грибів і найпростіших. Облігатний внутрішньоклітинний паразитизм вірусів.
6. Роль макроорганізму, зовнішнього оточення та соціальних умов у виникненні та розвитку інфекційного процесу.
7. Ланки епідеміологічного ланцюга.
8. Поширення мікробів та їх токсинів в організмі.
9. Динаміка інфекційного процесу.
10. Форми інфекцій.
11. Біологічний метод дослідження, його застосування при вивченні етіології, патогенезу, імуногенезу,

діагностики, терапії та профілактики інфекційних захворювань.

12. Способи експериментального зараження та бактеріологічне дослідження лабораторних тварин.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Додержання правил протиепідемічного режиму і техніки безпеки у бактеріологічній лабораторії.
2. Знезаражування інфікованого матеріалу, антисептична обробка рук, контамінованих досліджуваним матеріалом або культурою мікробів.
3. Виготовлення препаратів з патологічного матеріалу, забарвлення за Грамом, мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

- 1) с. 115-137; 2) с. 118; 124-126; 127-131; 3) с. 100-101; 4) с. 69-81; 5) с. 98-102, 115-157; 6) с. 5-11; 136; 7) 145-164; 8) с. 135-150; 9) с. 126-137.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

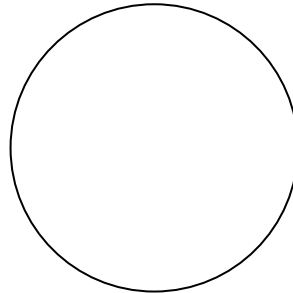
Завдання № 1: Визначити наявність факторів патогенності у досліджуваних культур стафілококів, результати занести до таблиці.

<i>Фактори патогенності</i>	<i>Культура № 1</i>	<i>Культура № 2</i>
Гемолізину		
Плазмокоагулаза		
Лецитиназа		

Примітка: "+" - наявність фактору патогенності; "-" - його відсутність.

Завдання № 2: Провести розтин загиблої експериментально зараженої лабораторної тварини.

Завдання № 3: Приготувати мазки-відбитки внутрішніх органів загиблої тварини, забарвити за Грамом. Мікроскопіювати та замалювати.



(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 15

Тема: Види імунітету. Фактори неспецифічного захисту організму та методи їх дослідження. Фактори неспецифічної резистентності порожнини рота.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Поняття "імунітет". Класифікація імунітету за походженням, за направленістю та механізмом дії.
2. Фактори неспецифічного захисту організму: клітинні та тканинні, гуморальні, функціонально-фізіологічні.
3. Фагоцитоз, поняття про опсоніни. Класифікація фагоцитуючих клітин. Основні стадії фагоцитозу. Завершений і незавершений фагоцитоз.
4. Методи вивчення фагоцитарної активності: визначення відсотку фагоцитуючих нейтрофілів, фагоцитарного числа.
5. Гуморальні фактори неспецифічного захисту. Методи їх дослідження.
6. Механічні, хімічні і біологічні фактори неспецифічної

резистентності в порожнині рота (слина, нормальна мікрофлора, лізоцим, інші ферменти слини, комплемент, β -лізини та ін.). Особливості фагоцитозу в ротовій порожнині.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Проводити облік та оцінювати результати реакції титрування лізоциму.
2. Вміти визначати відсоток фагоцитуючих нейтрофілів, фагоцитарне число.
3. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

- 1) с. 137-145; 182; 2) с. 148-165; 235-236; 3) с. 125-126; 4) с. 102-104; 5) с. 77-89; 103; 107-108; 6) с. 164-177; 222- 223; 7) с. 163-170; 203; 8) с. 138-139; 167-169; 9) с. 31-37.

Протокол практичного заняття
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

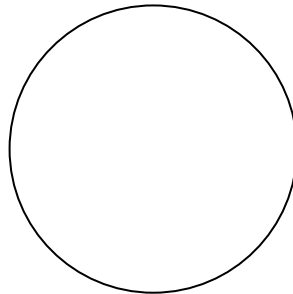
Завдання № 1: Визначити титр лізоциму слини.

Номер пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8 контроль культури
Інгредієнти								
Фізіологічний розчин (мл)	1.8	1	1	1	1	1	1	1
Слина (мл)	0.2	1	1	1	1	1	1	
Розведення	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
Облік результатів								

"+" - лізис тест-культури; "-" - відсутність лізису

Висновок: _____

Завдання № 2: Розглянути під мікроскопом і замалювати препарат, що демонструє явище фагоцитозу.
 Зробити відповідні позначення.



(зabarвлення за Романовським-Гімза)

Завдання № 3: Визначити відсоток фагоцитуючих нейтрофілів та фагоцитарне число в мазках крові обстежуваних.

Кількість фагоцитуючих нейтрофілів	Кількість „пустих” нейтрофілів	Кількість захоплених нейтрофілом часточок		
		1-10	11-20	21 і більше
а	б	в	г	д

Відсоток фагоцитуючих нейтрофілів =

$$\text{Фагоцитарне число (кількість часточок в одній клітині)} = \frac{5 \cdot \text{в} + 15 \cdot \text{г} + 25 \cdot \text{д}}{\text{а}}$$

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 16

Тема: Набутий імунітет. Антигени і антитіла. Серологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань. Застосування серологічного методу в діагностиці захворювань порожнини рота. Реакції преципітації та нейтралізації.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Антигени: визначення, характеристика, класифікація.
2. Антигенна будова мікроорганізмів. Локалізація, хімічний склад і специфічність антигенів бактерій, вірусів, ферментів, токсинів. Роль мікробних антигенів в інфекційному процесі та розвитку імунної відповіді.
3. Антигени гістосумісності людини, їх характеристика та функції.
4. Антитіла: визначення, структура, класифікація, синтез. Поняття про валентність антитіл. Антигенна будова імуноглобулінів: ізо-, ало-, ідіотипові детермінанти. Практичне застосування.
5. Динаміка утворення антитіл. Первинна та вторинна імунна відповідь, їх особливості.
6. Імуноглобуліни слини. Роль секреторних імуноглобулінів.
7. Поняття про імунологічну пам'ять та імунологічну толерантність.
8. Серологічні реакції, їх механізми і практичне використання.
9. Основні компоненти серологічних реакцій. Діагностичні

імунні сироватки, діагностикуми. Моноклональні антитіла, їх використання.

10. Застосування серологічного методу в діагностиці інфекційних захворювань за умов локалізації специфічного процесу в порожнині рота (сифіліс, гонорея, дифтерія, герпетична інфекція та ін.).
11. Реакції, засновані на феномені преципітації: кільцепреципітація, флокуляція, преципітація у гелі. Практичне застосування.
12. Реакція нейтралізації (токсинів, вірусів, рикетсій). Практичне застосування.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Вміти проводити облік і оцінювати результати реакцій преципітації та нейтралізації.

Література:

- 1) с.145-158; 177-179; 2) с.165-186; 193-198; 232-233; 238; 3) с. 137-140; 4) с.137-140; 5) с.112-113; 115-117; 7) с.177-200; 220-221; 223; 8) с.170-181; 194-195; 197-200; 9) с. 37-38.

Протокол практичного заняття

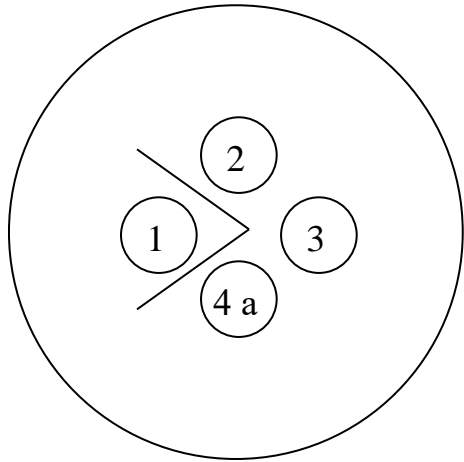
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Поставити реакцію термодіагностичної реакції (за Асколі) з преципітуючою сибірковою сироваткою і екстрактом, який одержано із органів загиблої тварини. Зробити облік і оцінити результати.

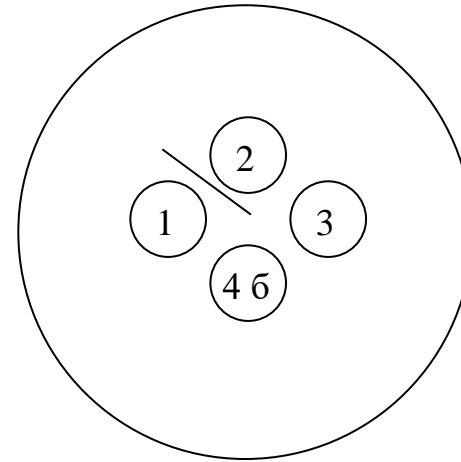
Номер пробірки	Дослід	Контроль	Контроль	Контроль
	1	2	3	4
Інгредієнти (мл)				
Протисибіркова сироватка	0,5		0,5	0,5
Досліджуваний екстракт	0,5	0,5		
Нормальна сироватка		0,5		
Сибірковий екстракт				0,5
Екстракт без сибіркових антигенів			0,5	
Облік				

Висновок:

Завдання № 2: Зробити облік і оцінити результати реакції преципітації в гелі за демонстраційними препаратами.



Реакція позитивна/негативна (*невірне викреслити*)



Реакція позитивна/негативна (*невірне викреслити*)

1. Специфічна імунна преципітуюча сироватка (протиdifтерійна);
2. Відомий антиген (токсигенна культура збудника дифтерії *Corynebacterium diphtheriae*);
3. Нормальна сироватка;
4. Невідомий антиген (досліджувані культури *Corynebacterium diphtheriae* 4a і 4б).

Висновок:

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 17

Тема: Реакція аглютинації. Механізми специфічного імунітету порожнини рота.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Центральні і периферичні органи імунної системи.
2. Імунокомпетентні клітини. Характеристика популяцій Т- і В-лімфоцитів.
3. Поверхневі маркери і рецептори імунокомпетентних клітин.
4. Кооперація між імунокомпетентними клітинами в процесі формування імунної відповіді. Поняття про імуномодулятори, імуностимулятори та імуносупресори. Інтерлейкіни.
5. Регуляція імунної відповіді (фізіологічна та генетична).
6. Механізми специфічного імунітету порожнини рота.
7. Реакції, засновані на феномені аглютинації: пряма і непряма аглютинація, реакція гальмування непрямої гемаглютинації, реакція зворотної непрямої

гемаглютинації, реакція Кумбса – антиглобуліновий тест. Інгредієнти, мета.

8. Практичне використання реакції аглютинації.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Вміти поставити, провести облік і оцінити результати реакції аглютинації на склі.
2. Вміти проводити облік і оцінювати результати розгорнутої реакції аглютинації.
3. Вміти проводити облік і оцінювати результати реакції непрямої гемаглютинації (РНГА).

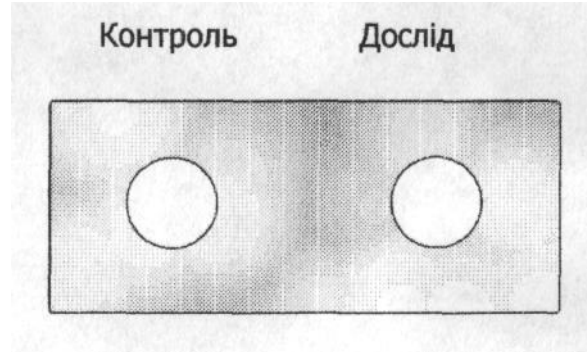
Література

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. 126-134; 4) с. 34-43; 4) с. 107-112; 6) с. 91-105; 132-133; 7) с. 177; 178-179; 218-220; 223; 8) с. 171-173; 192-197; 202-203; 9) с. 37-38.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Поставити реакцію аглютинації на склі з діагностичною аглютинуючою черевнотифозною сироваткою (розведення 1:10) і досліджуваною добовою культурою бактерій. Зробити облік, замалювати і оцінити результати.



Висновок:

—

Завдання № 2: Провести облік і оцінити результати розгорнутої реакції аглютинації (РРА) з сироваткою хворого і черевнотифозним діагностиком.

Номер пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Інгредієнти						контроль діагностикума	контроль сироватки
Фізіологічний розчин (мл)	-	1	1	1	1	1	—
Сироватка хворого 1 :50 (мл)	1	1	1	1	1	—	1
Розведення сироватки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	—	1:50
Діагностикум (краплі)	5	5	5	5	5	5	—
Облік результатів							

„+” - утворення осаду, надосадова рідина прозора;
 „-” - відсутність осаду, рідина мутна.

Висновок _____

Завдання № 3: Провести облік і оцінити результати реакції непрямой гемаглютинації (РНГА), поставленої з сироваткою хворого і еритроцитарним туляремійним діагностиком.

Номер лунки Інгредієнти	1	2	3	4	5	6 контроль діагностикума	7 контроль сироватки
Фізіологічний розчин (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Сироватка хворого 1:50 (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	0,25
Розведення сироватки	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	—	1:50
Діагностикум (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Візуальна оцінка результатів (замалювати)							
Облік результатів							

„+” - осад великого діаметру, зернистий, з нерівним краєм ("килимок");
 „-” - осад малого діаметру, щільний, однорідний, з рівним краєм ("гудзик").

Висновок:

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 18

Тема: Реакція імунного лізису (бактеріоліз, гемоліз). Реакція зв'язування комплементу (РЗК). Реакції з використанням мічених антигенів та антитіл.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Клітинна імунна відповідь. Види імунних реакцій клітинного типу.
2. Гуморальна імунна відповідь і її етапи.
3. Реакція імунного лізису: компоненти, механізм, практичне застосування.
4. Реакція бактеріолізу: компоненти, методика постановки, оцінка результатів, практичне застосування.
5. Реакція імунного гемолізу: компоненти, методика постановки, облік і оцінка результатів. Застосування.
6. Реакція зв'язування комплементу (РЗК): компоненти, механізм, методика постановки, облік і оцінка

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Проводити облік та оцінювати результати реакції зв'язування комплементу.
2. Проводити облік та оцінювати результати реакції імунофлюоресценції, імуноферментного аналізу.

результатів реакції, практичне застосування.

7. Реакція імунофлюоресценції (РІФ): пряма і непряма.
8. Імуноферментний аналіз (ІФА): пряма, непряма, твердофазний, конкурентний, імуноблотінг.
9. Радіомунний аналіз (РІА): конкурентний, зворотний, непряма.
10. Імуноелектронна мікроскопія.
11. Практичне використання зазначених методів дослідження.

Література:

- 1) с. 160-167; 179-180; 182 - 183; 2) с. 234-235; 233 - 234; 236-238;
- 3) с. 140-151; 4) с. 47-54; 54 - 63; 5) с. 118-122; 107; 114 -115; 118;
- 6) с. 105-106; 134-135; 117 - 119, 126 -128; 7) с. 200-215; 221-222; 223-225;
- 8) с. 185-192; 200-201; 204.

Протокол практичного заняття
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Провести облік та оцінити результати реакції зв'язування комплементу (РЗК) з сироваткою хворого і гонококковим діагностиком.

Інгредієнти (мл)	Досліджувана сироватка (розведення 1:10)	Антиген (робоча доза)	Комплемент (робоча доза)	Фізіологічний розчин	37°C – 1 година	Гемолітична система		37°C – 1 година	Облік	
						Гемолітична сироватка	Еритроцити барана		Гемоліз	РЗК
Номер пробірки										
1 (дослід)	0,5	0,5	0,5	-	37°C – 1 година	0,5	0,5	37°C – 1 година		
2 (контроль сироватки)	0,5	-	0,5	0,5		0,5	0,5			
3 (контроль антигену)	-	0,5	0,5	0,5		0,5	0,5			

«+» - позитивний результат

«-» - негативний результат

Висновок:

Завдання № 2: Замалювати схему прямої і непрямой реакції імунофлюоресценції (РІФ).

Пряма РІФ

Непряма РІФ



Завдання № 3: Замалювати схему прямого і непрямого твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА).

Прямий ІФА

Непрямий ІФА



Завдання № 4: Провести облік та оцінити результати імуноферментного аналізу (ІФА) з метою виявлення антитіл до антигенів збудника сифілісу. Внести результати досліджень до таблиці.

Дані фотометрії досліджуваних зразків

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А В С D E F G H												

Висновок:

Підпис викладача _____

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 19

Тема: Імунний статус людини та методи його оцінки. Природні та набуті імунодефіцитні стани. Імунопрофілактика та імуноterapia інфекційних хвороб.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Поняття про імунний статус. Імунний статус, як динамічна врівноважена система. Імунітет порожнини рота.
2. Імунодефіцитні стани та причини їх виникнення. Роль імунодефіцитів у розвитку інфекційних процесів у порожнині рота.
3. Первинні та вторинні імунодефіцитні стани.
4. Особливості імунної відповіді (реактивності) при порушенні найбільш уразливих ланок імунної системи.
5. Показники, що характеризують стан імунної системи організму людини (імунограма):
 - а) неспецифічні показники (макрофаги, нормальні клітери, комплемент, інтерферони, лізоцим);
 - б) специфічні показники (імуноглобуліни, Т- і В-лімфоцити та їх субпопуляції, індекс стимуляції мітогенами та інші).
6. Методи оцінки загального стану імунної системи та мотиви їх вибору:
 - а) імунологічні тести I рівня (орієнтовні): визначення титру комплементу, оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів, концентрації основних класів імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG), загальної кількості лімфоцитів, Т- і В-лімфоцитів;
 - б) імунологічні тести II рівня (аналітичні): НСТ-тест, визначення ЛКБ, кількості Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій (CD⁴⁺, CD⁸⁺ та ін.), специфічних IgE,

циркулюючих імунних комплексів (ЦК), функціональної активності лімфоцитів (реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ).

7. Загальні правила, яких доцільно дотримуватись при інтерпретації імунограм.
8. Практична значимість оцінки імунограм.
9. Активна і пасивна імунопрофілактика та імуноterapia.
10. Вакцини: типи, одержання, оцінка ефективності та контроль. Ад'юванти.
11. Вакцинопрофілактика і вакцинотерапія. Аутовакцини.
12. Сучасні підходи до специфічної профілактики карієсу.
13. Протипоказання та ускладнення, що спостерігаються при вакцинопрофілактиці і вакцинотерапії. Запобігання ускладнень.
14. Сироватки: класифікація, принципи одержання, очистки і контролю сироваток та імуноглобулінів.
15. Серопрофілактика і серотерапія.
16. Ускладнення при серотерапії та серопрофілактиці. Запобігання ускладнень.

б) Перелік практичних навичок та вмінь, якими необхідно оволодіти:

1. Навчитись заповнювати бланки імунограм.
2. Вміти оцінювати імунограму.
3. Проводити облік та оцінювати результати серологічних реакцій.

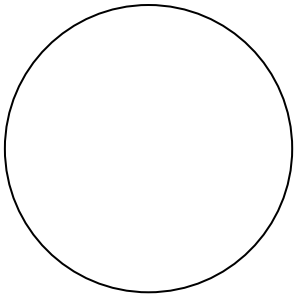
Література: 1) с. 158-160; 183 -187; 2) с. 215-224; 148; 225 - 228; 3) с. 151-171; 5) с.102-107; 123 -125; 6) с. 108 - 112; 7) с.208-209; 216-218; 494-497; 221, 225 - 230; 8) с. 181 – 185; 212 - 216; 9) с.37-38, 55-56.

Протокол практичного заняття

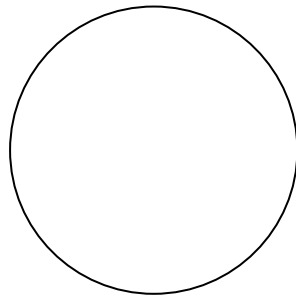
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Мікроскопіювати демонстраційні препарати для визначення НСТ-тесту, замалювати нейтрофіли різних груп (в залежності від кількості гранул диформагану в цитоплазмі).

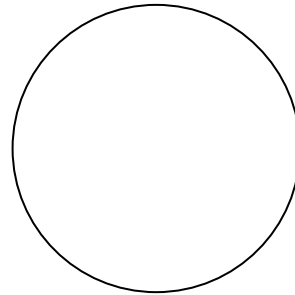
0



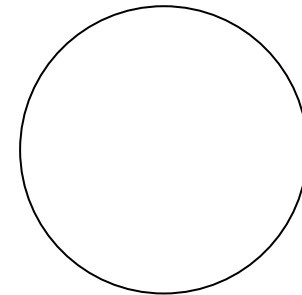
1



2



3



Завдання № 2: Оцінити кисень-активуючу здатність нейтрофілів за НСТ-тестом у обстежуваних людей, використовуючи результати підрахунку нейтрофілів в мазку крові та розподілу їх по групам:

	Обстежувані		
	№1	№2	№3
0 - нейтрофіли без гранул			
1- нейтрофіли з одиничними гранулами або з площею забарвленої цитоплазми до 25-30%			
2 - нейтрофіли з цитоплазмою, на 30-70% заповненою гранулами диформагану			
3 - нейтрофіли, цитоплазма яких на 100% заповнена гранулами диформагану			

Розрахувати середній цитохімічний коефіцієнт (СЦК), занести до бланків імунограм (див. додаток стор. 71-74).

Обстежуваний № 1 СЦК =

Обстежуваний № 2 СЦК =

Обстежуваний № 3 СЦК =

Висновок:

Завдання № 3: Визначити концентрацію імуноглобулінів класів А, М, і G у сироватках крові обстежуваних імуноферментним методом за результатами фотометрії контрольних та досліджуваних зразків, використовуючи обернено-пропорційний розрахунок та враховуючи концентрацію імуноглобулінів у контрольних пробах:

IgA -1,59 мг/мл; IgM -1,32 мг/мл; IgG - 8,95 мг/мл (див. додаток стор. 71-74).

Результати фотометрії занести до таблиці.

Визначені концентрації Ig (A, M, G) занести до бланків імунограм.

	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			

	Обстежуваний №1	Обстежуваний №2	Обстежуваний №3
IgA			
IgM			
IgG			

Висновок: _____

Завдання № 4: Занести до бланків імунограм результати обстеження пацієнтів, оцінити одержані результати.

Імунограма

Показники	Вміст в 1 мкл (%)	Обстежуваний № 1	Обстежуваний № 2
Абсолютне число лейкоцитів	4500-7000 (100 %)		
У тому числі: нейтрофілів	4000 (65%)		
Еозинофілів	200-400 (4%)		
Абсолютне число лімфоцитів	1500-2000 (25%)		
-CD3 (Т-загальні)	800-1200		
-CD4 (Т-хелпери)	500-900		
-CD8 (Т-кілери)	400-600		
-CD16 (NK)	170-400		
-CD20 (В-клітини)	200-400		
HLA II	340-720		
Імуноглобуліни			
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, (умов.од.)	20-80		
Фагоцитоз			
	Спонтанний	Стимульований	Індекс стимуляцій
НСТ-тест (од.млн.кл.)	70-120	150-200	1,2-2
Фагоцитоз (%)	48-88		
Індекс фагоцитозу	1,3-3		
Адгезія (%)	40-55	70-80	
Реакція бласттрансформації			

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

Висновок: _____

Завдання № 5: Ознайомитись з конкретними імунобіологічними препаратами, які призначені для специфічної профілактики та лікування інфекційних хвороб. Характеристики розглянутих препаратів занести до відповідних таблиць.

Вакцини

	Вакцина №1	Вакцина №2	Вакцина №3
Назва			
Тип			
Склад			
Призначення			
Форма відтворюваного імунітету			

Сироватки

	Сироватка № 1	Сироватка № 2	Сироватка № 3
Назва			
Ступінь очищення (метод одержання)			
Склад (характер антитіл)			
Призначення			
Форма відтворюваного імунітету			

Підпис викладача _____

Додаток до визначення показників, які характеризують імунний статус людини.

1. Визначення числа лейкоцитів в крові.

Метод ґрунтується на підрахунку лейкоцитів в одиниці об'єму (л або мкл) крові при постійному розведенні крові і визначеному об'ємі камери для підрахунку. Підрахунок лейкоцитів ведуть при малому збільшенні мікроскопа (об'єктив x8, окуляр x10), затемненому полі зору (опущений конденсор або звужена діафрагма) в 100 великих квадратах камери Горяєва, одержане число множать на 50, виражають у вигляді $a \cdot 10^9/\text{л}$ або $\text{тис}/\text{мкл}$.

2. Визначення числа лімфоцитів в крові.

Визначення числа лімфоцитів в крові проводять шляхом підрахунку лейкоцитарної формули, визначають відсоткове співвідношення лейкоцитів в мазку крові, забарвленому за Романовським-Гімза або Папенгеймом. Знаючи відсотковий вміст лімфоцитів і загальне число лейкоцитів в одиниці об'єму крові, знаходять абсолютну кількість лімфоцитів в крові (в 1 л або мкл).

3. Визначення субпопуляційного складу лімфоцитів крові методом непрямой імуофлюоресценції.

Принцип методу: специфічні моноклональні антитіла зв'язуються з мембранними антигенами (рецепторами CD^3 , CD^4 , CD^8 , CD^{16} , CD^{20} та ін.) живих клітин (лімфоцитів), які знаходяться у суспензії. Для виявлення даного комплексу використовують антивидові антитіла до імуноглобулінів, мічені флюорохромом. При люмінесцентній мікроскопії препаратів визначають відсотковий вміст лімфоцитів певної субпопуляції, а потім вираховують їх абсолютну кількість та співвідношення окремих субпопуляцій (CD^4/CD^8 , CD^3/CD^{20}).

4. Визначення концентрації Ig A, M, G.

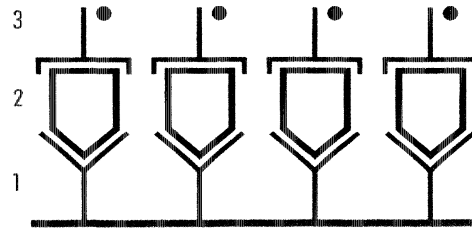
Для кількісного визначення імуноглобулінів в сироватці крові та інших біологічних рідинах людини використовують твердофазний метод імуоферментного аналізу (ІФА).

Прямий твердофазний метод ІФА заснований на принципі „сендвіча“. Аналіз проводиться в дві стадії.

На першій стадії контрольні зразки з відомою концентрацією імуноглобулінів (A, M, G) і досліджувані проби інкубуються в лунках полістиролового планшета з іммобілізованими моноклональними антитілами (МКАТ) до імуноглобулінів (A, M, G). Потім планшет „відмивається“ (для видалення із системи інших, неспецифічно зв'язаних з моноклональними антитілами компонентів).

На другій стадії імуноглобулін (A, M, G), що зв'язався в лунках, обробляють кон'югатом МКАТ до Ig (A, M, G) людини з пероксидазою (МКАТ у складі кон'югату та іммобілізовані в лунках планшета МКАТ специфічні до різних ділянок молекули Ig (A, M, G).

Після „відмивання“ надлишку кон'югата імунні комплекси „іммобілізовані МКАТ - Ig (A, M, G) - кон'югат“ виявляють ферментативною реакцією пероксидази з перекисом водню в присутності хромогену. Інтенсивність забарвлення хромогену пропорційна концентрації Ig (A, M, G) в досліджуваному зразку. Після зупинки пероксидазної реакції стоп-реагентом результати реєструють фотометрією зразків (вимірюють оптичну густина в лунках планшета при 492 нм).

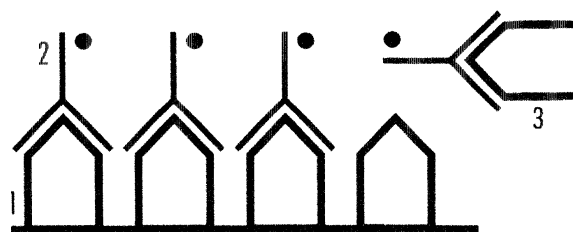


- 1- МКАТ до Ig (A,M,G), іммобілізовані в лунках планшета;
- 2- Ig (A,M,G) досліджуваних зразків;
- 3 -кон'югат (МКАТ до Ig (A,M,G) з ферментною міткою).

Конкурентний твердофазний метод ІФА.

В лунки полістиролового планшета з іммобілізованими імуноглобулінами людини (IgA – 1-4 ряди, IgM – 5-8 ряди, IgG – 9 –12 ряди) вносять контрольні сироватки (“кс”) з відомою концентрацією Ig (A, M, G), досліджувані зразки (14) та фосфатно-сольовий буфер (“б”, використовується для розведення зразків, контролів, кон'югатів, промивання планшета). Безпосередньо після цього в лунки вносять відповідні розчини кон'югатів (кон'югат А).

(МКАТ до IgA з ферментною міткою – пероксидазою) – в 1-4 ряди, кон'югат М – в 5-8 ряди, кон'югат G в 9-12 ряди). Імуноглобуліни, що містяться в досліджуваних зразках, конкурують з іммобілізованими на твердій фазі імуноглобулінами за зв'язок з кон'югатом. Ступінь зв'язування введених МКАТ з імуноглобулінами твердої фази знижується (їх “перехвачують” імуноглобуліни досліджуваних зразків). Після інкубації планшет промивають. Зв'язок МКАТ у складі кон'югату з іммобілізованими імуноглобулінами оцінюють за допомогою ферментативної реакції пероксидази з перекисом водню в присутності хромогену. Для цього в лунки вносять субстратну суміш (субстрат – H₂O₂ та хромоген) і знову інкубують. Після зупинки стоп-реагентом ферментативної реакції результати реєструють фотометрією зразків.



- 1 -іммобілізовані в лунках планшета імуноглобуліни (A,M,G);
- 2 - МКАТ до Ig (A,M,G) з ферментною міткою;
- 3 - імуноглобуліни (A,M,G) досліджуваних зразків.

Концентрацію імуноглобулінів (A, M, G) в досліджуваних зразках визначають за калібровочним графіком, або використовують обернено пропорційний розрахунок:

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

P_k - оптична густина контрольного зразка,
 P_x - оптична густина досліджуваного зразка,
 C_k - концентрація імуноглобуліну в контрольному зразку,
 C_x - концентрація імуноглобуліну в досліджуваному зразку.

Виходячи з цього:

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

5. Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

В основі методу лежить здатність розчину поліетиленгліколю (ПЕГ) осаджувати із сироватки агреговані імуноглобуліни та імунні комплекси. Низькі концентрації ПЕГ осаджують комплекси великих розмірів, високі концентрації викликають преципітацію низькомолекулярних сполук. Зміна густини розчинів реєструється на спектрофотометрі при довжині хвилі 280 нм.

6. Визначення фагоцитарної активності нейтрофілів.

В основі методу лежить здатність фагоцитів (нейтрофілів) захоплювати частинки латексу, які забарвлюються за Романовським-Гімза в блакитний колір. Під мікроскопом продивляються 100 лейкоцитів (нейтрофілів) і визначають кількість захоплених ними часточок, поглинутих в середньому одним нейтрофілом і відсоток фагоцитуючих нейтрофілів - тобто, кількість нейтрофілів із 100, які проявили фагоцитарну активність (а).

кількість фагоцитуючих нейтрофілів	кількість "пустих" нейтрофілів	кількість захоплених нейтрофілом часточок		
		1-10	11-20	21 і більше
а	б	в	г	д

$$\text{фагоцитарне число (кількість часточок в одній клітині)} = \frac{5 \cdot в + 15 \cdot г + 25 \cdot д}{а}$$

де 5, 15, 25 - кількість часточок в одному нейтрофілі; в, г, д - кількість нейтрофілів.

7. Визначення кисень-активуючої здатності нейтрофілів за НСТ-тестом.

Метод заснований на здатності зрілих гранулоцитів відновлювати за рахунок активних форм кисню (супер-оксиданіонрадикал, що виділяється при активації дихального вибуху нейтрофілів) піноцитований світло-жовтого кольору барвник тетразолієвого ряду - нітросиній тетразолій (НСТ) до нерозчинної форми - диформазану, який має вигляд темно-синіх гранул в цитоплазмі нейтрофілів.

Застосовують спонтанний та стимульований (убитою культурою золотистого стафілококу або зимозаном) НСТ-тест. В мазку крові при

імерсійній мікроскопії підраховують 100 нейтрофілів, розподіляючи їх по групам в залежності від кількості гранул диформазану в цитоплазмі.

0 - нейтрофіли без гранул;

1 - нейтрофіли з одиничними гранулами або з площею забарвленої цитоплазми до 25-30%;

2 - нейтрофіли з цитоплазмою, на 30-70% заповненою гранулами диформазану;

3 - нейтрофіли, цитоплазма яких на 100% заповнена гранулами диформазану. Розраховують середній цитохімічний коефіцієнт за формулою:

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

де $a, б, в, г, д$ - кількість нейтрофілів однієї групи; 0, 1, 2, 3 - групи нейтрофілів.

Якщо застосовують спонтанний і стимульований НСТ-тест, то розраховують індекс стимуляції:

$$\text{ІС} = \frac{\text{СЦК стимульованого НСТ-тесту}}{\text{СЦК спонтанного НСТ-тесту}}$$

8. Визначення лізосомальних катіонних білків (ЛКБ).

Катіонні білки - це неферментні білки, медіатори запалення, які локалізуються в лізосомах гранулоцитів і відіграють важливу роль в реалізації бактерицидної функції нейтрофілів. ЛКБ - це метод, що дозволяє швидко визначити зсув у рівні неспецифічної резистентності та дати оцінку тяжкості перебігу захворювання.

В основі цитохімічного дослідження катіонних білків - використання діахромних аніонних барвників. Лізосоми нейтрофільних, еозинофільних гранулоцитів та бактерії, що загинули під впливом катіонних білків, забарвлюються в один колір (в залежності від барвника, що застосовується: забуферений спиртовий розчин тривкого зеленого - в зелений, бромфеноловий синій - в синій), а клітинні елементи (ядра) і життєздатні бактерії - в інший (при застосуванні азура А - в бузковий та синій кольори, сафраніну - жовтогарячий та червоний). При імерсійній мікроскопії препарату (мазка крові, кісткового мозку, мокротиння, препарату-відбитка з поверхні вогнища запалення, змивів з бронхів) підраховують 100 нейтрофілів, розподіляючи їх по групам в залежності від наявності позитивної реакції на КБ та їх інтенсивності:

0 - не дають позитивної реакції на катіонні білки; 1 - дають слабо виражену позитивну реакцію; 2 - дають виражену позитивну реакцію;

3 - дають яскраво виражену позитивну реакцію. Розраховують середній цитохімічний коефіцієнт за формулою:

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

Дата _____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 20

Тема: Підсумкове заняття: „Вчення про інфекцію”. „Вчення про імунітет”.

1. Визначення поняття "інфекція", "інфекційний процес", "інфекційна хвороба".
2. Умови виникнення інфекційного процесу.
3. Роль мікроорганізмів в інфекційному процесі. Патогенність, вірулентність. Одиниці вірулентності.
4. Фактори патогенності мікроорганізмів: адгезини, інвазини, ферменти патогенності, структури і речовини бактерій, що пригнічують фагоцитоз, ендотоксини, білкові токсини (екзотоксини).
5. Роль макроорганізму, зовнішнього оточення та соціальних умов у виникненні та розвитку інфекційного процесу.
6. Ланки епідеміологічного ланцюга.
7. Поширення мікробів та їх токсинів в організмі.
8. Динаміка інфекційного процесу.
9. Форми інфекцій.
10. Біологічний метод дослідження, його застосування при вивченні етіології, патогенезу, імуногенезу, діагностики, терапії та профілактики інфекційних захворювань.
11. Способи експериментального зараження та бактеріологічне дослідження лабораторних тварин.
12. Поняття про імунітет. Класифікація. Видовий та індивідуальний імунітет.
13. Неспецифічні фактори імунітету: клітинні і тканинні, гуморальні, функціонально-фізіологічні. Характеристика, функції.
14. Індивідуальний імунітет. Класифікація.
15. Система набутого імунітету. Центральні та периферичні органи імунної системи. Імунокомпетентні клітини: Т- і В-лімфоцити і макрофаги.
16. Характеристика популяцій Т- і В-лімфоцитів.
17. Антигени. Поняття про чужорідність, антигенність, імуногенність і специфічність. Повноцінні антигени, гаптени, напівгаптени.
18. Антигенна будова бактерій, вірусів.
19. Антигенна будова токсинів, анатоксинів, бактеріальних ферментів.
20. Антигени головного комплексу гістосумісності (НІА) і їх характеристика і функції.
21. Кооперація між імунокомпетентними клітинами в процесі імунної відповіді організму. Регуляція імунної відповіді (фізіологічна, генетична).
22. Антитіла. Структура і функції імуноглобулінів. Поняття про валентність антитіл. Антигенні властивості імуноглобулінів: ізо-, ало-, ідіотипи. Поняття про моноклональні антитіла.

23. Класи імуноглобулінів, їх властивості, рівень вмісту в сироватці крові.
24. Динаміка антитілоутворення. Первинна та вторинна імунна відповідь, їх особливості.
25. Поняття про імунологічну пам'ять та імунологічну толерантність.
26. Форми протиінфекційного імунітету: за зв'язком із збудником (стерильний і нестерильний), за обхватом організму (загальний і місцевий), за механізмом (гуморальний, клітинний, змішаний), за направленістю (антитоксичний, антибактеріальний, протівірусний, антигрибковий, протипаразитарний).
27. Сучасні теорії імуногенезу.
28. Імунопрофілактика та імуноterapia. Вакцини та сироватки (їх призначення). Типи вакцин: живі, убиті, хімічні, анатоксини, комбіновані, рекомбінантні (генно-інженерні), антиідіотипічні, рибосомальні. Їх призначення, принцип одержання, ступінь ефективності.
29. Вакциноterapia. Препарати. Ступінь ефективності. Механізм дії.
30. Протипоказання та ускладнення, що спостерігаються при вакциноterapiї і вакцинопрофілактиці. Запобігання ускладнень.
31. Класифікація імунних сироваток: за метою, характером антитіл, походженням. Методи одержання. Ступінь ефективності. Дозування.
32. Класифікація імунних сироваток за ступенем очищення від баластних білків. Принципи очищення.
33. Ускладнення при серотерапії та серопротілактиці. Запобігання ускладнень.
34. Імунодефіцитні стани (поняття, принципи класифікації).
35. Аутоімунні захворювання (поняття, механізм реалізації, прояви).
36. Поняття про імунний статус організму. Імунокоригуюча терапия.
37. Практичне застосування серологічного методу дослідження: серологічна ідентифікація, серологічна діагностика.
38. Серологічні реакції: РП, РН. РНГА, РГГА, РЗК. Інгредієнти реакцій, механізм, техніка постановки, облік, оцінка результатів, призначення.
39. Серологічні реакції з використанням мітки: РІФ, ІФА, РІА. Інгредієнти реакцій, техніка постановки, облік, оцінка результатів, призначення.
40. Опсоно-фагоцитарна реакція.
41. Імунологічні основи алергічних реакцій. Алергени. Шкірні алергічні проби.
42. Розв'язування ситуаційних задач.

Профільні питання для студентів стоматологічного факультету:

1. Імунітет порожнини рота.
2. Специфічні і неспецифічні фактори імунного захисту порожнини рота, їх взаємодія.
3. Ураження різних структур ротової порожнини, обличчя, шиї, які спостерігаються при спадкових і набутих імунодефіцитних станах (кандидози слизової оболонки порожнини рота, язика, мигдаликів, губ, шкіри обличчя, патології вірусного та бактеріального походження і т. ін.)
4. Імунокорегуюча терапія в стоматологічній практиці.
5. Вакциноterapia в стоматологічній практиці.
6. Методи дослідження окремих ланок системи імунітету, які забезпечують гомеостаз компонентів порожнини рота: а) кількісні методи (визначення кількості таких клітин, як фагоцити, Т- і В-лімфоцити; визначення титру БАР в ротовій рідині); б) функціональні проби.

З М І С Т

	Стор.
1. Мікробіологічна лабораторія: організація, обладнання, призначення. Методи мікроскопічного дослідження. Бактеріоскопічний метод діагностики інфекційних захворювань.....	5
2. Морфологія та структура бактерій. Методи приготування препаратів з культур бактерій і патологічного матеріалу. Прості методи забарвлення. Забарвлення бактерій за методом Грама.....	7
3. Структура бактеріальної клітини: включення, капсула, джгутики. Методи їх виявлення. Методи виявлення спор та кислотостійких бактерій.....	10
4. Морфологія і структура спірохет, актиноміцетів, грибів та найпростіших. Методи вивчення їх морфології.....	13
5. Морфологія та структура рикетсій, хламідій, мікоплазм і вірусів. Методи їх виявлення.....	16
6. Морфологія та структура мікроорганізмів, що входять у склад нормальної мікрофлори порожнини рота. Мікроскопічний метод дослідження в стоматології.....	19
7. Підсумкове заняття "Морфологія мікроорганізмів".....	22
8. Культивування бактерій, живильні середовища. Методи стерилізації, дезінфекції. Методи виділення чистих культур аеробних бактерій (1-й етап дослідження). Бактеріологічний (культуральний) метод діагностики інфекційних захворювань.....	24
9. Виділення чистих культур аеробних бактерій (2-й етап дослідження). Культуральні властивості бактерій.....	28
10. Виділення чистих культур аеробних бактерій (3-й та 4-й етапи дослідження). Методи вивчення ферментативної активності бактерій.....	32
11. Методи виділення чистих культур анаеробних бактерій (1-5 етапи дослідження). Бактеріологічний метод дослідження в стоматології.....	35

12. Мікробіологічні основи антимікробної хіміотерапії. Принципи антимікробної хіміотерапії в стоматології. Антибіотики. Бактеріофаги.....	40
13. Підсумкове заняття "Фізіологія і біохімія мікроорганізмів. Антибіотики та бактеріофаги".....	45
14. Вчення про інфекційний процес. Біологічний метод дослідження. Застосування біологічного методу в діагностиці захворювань порожнини рота.....	47
15. Види імунітету. Фактори неспецифічного захисту організму та методи їх дослідження. Фактори неспецифічної резистентності порожнини рота.....	49
16. Набутий імунітет. Антигени і антитіла. Серологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань. Застосування серологічного методу в діагностиці захворювань порожнини рота. Реакції преципітації та нейтралізації.....	52
17. Реакція аглютинації. Механізми специфічного імунітету порожнини рота.....	55
18. Реакція імунного лізису (бактеріоліз, гемоліз). Реакція зв'язування комплементу (РЗК). Реакції з використанням мічених антигенів та антитіл.....	59
19. Імунний статус людини та методи його оцінки. Природні та набуті імунодефіцитні стани. Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб.....	64
20. Підсумкове заняття: „Вчення про інфекцію”. „Вчення про імунітет”.....	75