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 медичного факультету

частина І

студента(ки) медичного факультету

ІІ 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 Центральною методичною комісією Вищого державного навчального закладу України "Українська медична стоматологічна академія"
від 17.04.03 (протокол №7) 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. ГАНЧО Ольга Валеріївна – к.б.н., викладач
6. КОСТІЧ Ольга Олексіївна - к.б.н., викладач
7. КНИШ Оксана Василівна - викладач
8. КОВАЛЕНКО Нінель Павлівна - к.б.н., викладач
9. КАНДЗЮБА Світлана Іванівна – старший лаборант
10. ВАНЖА Любов Григорівна - лаборант
11. БРЕЧКА Галина Валентинівна - препаратор
12. 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 инфекционнных 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: Принципи організації, апаратура і режим роботи мікробіологічної лабораторії. 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 техніки 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.

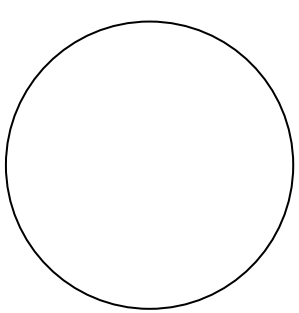
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

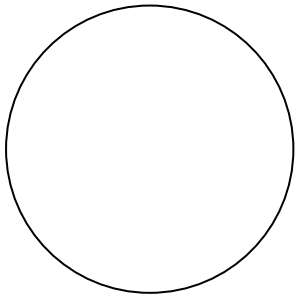
Завдання № 1: Вивчити правила роботи і техніки безпеки у мікробіологічній лабораторії.

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

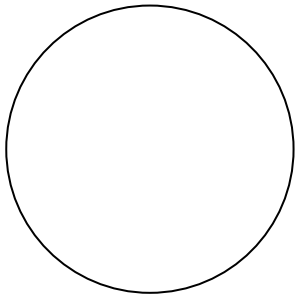
Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати: 1) стафілококи, 2) стрептококи, 3) монобактерії, 4) сарцини.



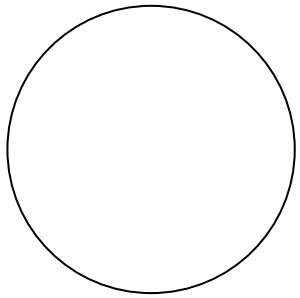
стафілококи



стрептококи



монобактерії



сарцини

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №2

Тема: Морфологія бактерій. Техніка виготовлення препаратів з культур бактерій і патологічного матеріалу. Прості методи забарвлення.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Класифікація мікроорганізмів за формою, кількістю і взаємним розташуванням клітин.
2. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження культур бактерій.
3. Етапи виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
4. Прості методи забарвлення, їх методика.

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

1. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження.
2. Забарвлення препаратів простими методами: водними розчинами фуксину та метиленового синього.
3. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

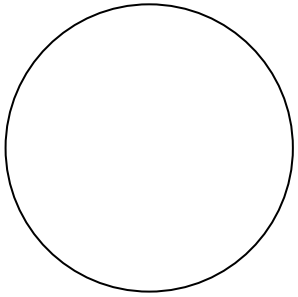
Література:

1) с. 23-27; 2) с. 31-32; 3) с. 19-26, 32-35; 4) с. 9-15; 5) с. 20-24; 6) с. 17; 113-114; 7) с. 27-28; 8) с. 23-26.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

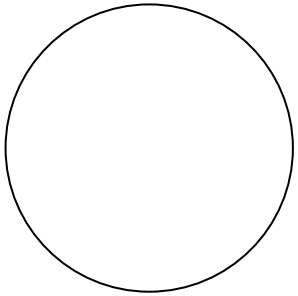
Завдання № 1: Виготовити препарат для мікроскопічного дослідження культури бактерій з твердого живильного середовища. Забарвити водним розчином фуксину. Мікроскопіювати, замалювати.



_____

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

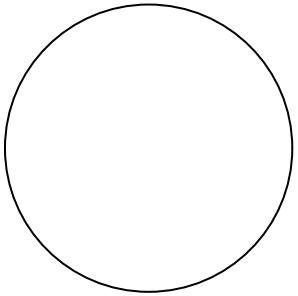
Завдання № 2: Виготовити препарат для мікроскопічного дослідження культури бактерій з рідкого живильного середовища. Забарвити водним розчином метиленового синього. Мікроскопіювати, замалювати.



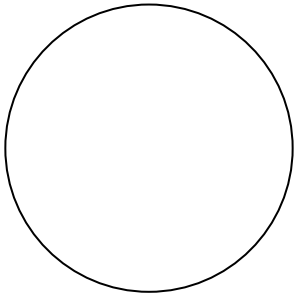
_____

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

Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати, які забарвлені простим методом: 1) диплококи, 2) вібріони.



диплококи (забарвлення метиленовим синім)



вібріони (забарвлення фуксином)

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: Структура бактеріальної клітини. Складні методи забарвлення. Метод Грама.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Структура бактеріальної клітини. Клітинна стінка, периплазма, цитоплазматична мембрана, цитоплазма, нуклеоїд, рибосоми, мезосоми, плазміди.
2. Хімічний склад і функції структурних компонентів ба ктеріальної клітини.
3. Поліморфізм бактерій. Властивості L-форм бактерій.
4. Складні методи забарвлення. Метод Грама.
5. Механізми взаємодії барвників зі структурами бактеріальної клітини.
6. Фактори, що впливають на забарвлення бактерій за Грамом.

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

1. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу.
2. Забарвлення препаратів складним методом: забарвлення за Грамом.
3. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
4. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

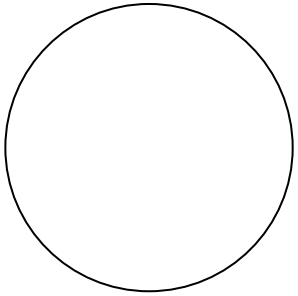
Література:

1) с. 27-31; 2) с. 33-40, 28-29; 3) с. 19-26, 32-35; 4) с. 15-17; 5) с. 25-26; 6) с. 19-25; 39-43; 7) с. 28-38; 8) с. 26-32.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Виготовити мазок із мікробної асоціації бактерій, забарвити за методом Грама. Мікроскопіювати, замалювати.



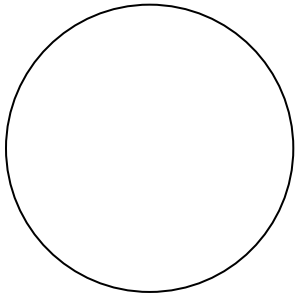
Етапи забарвлення за Грамом (модифікація Синьова):

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.

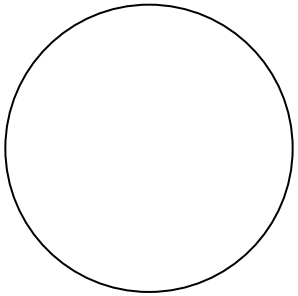
_____

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

Завдання № 2: Мікроскопіювати і замалювати препарати, які забарвлені за Грамом: 1) стрептобацили, 2) диплококи.



стрептобацили грампозитивні



диплококи грамнегативні

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 4

Тема: Структура бактеріальної клітини: включення, капсула, джгутики. Методи їх виявлення.

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.

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

1. Виготовлення препаратів "роздавлена" крапля та "висяча" крапля для мікроскопічного дослідження.
2. Мікроскопія препаратів у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.
3. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

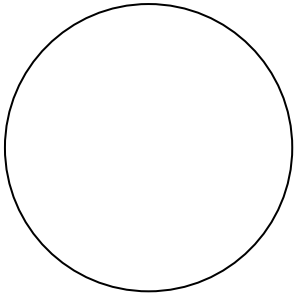
Література:

1) с. 28-29; 31-34; 2) с. 40-43; 3) с. 35-42; 4) с. 20-23; 23-25; 5) с. 23-24; 26-27; 36; 6) с. 17-19; 26; 114-115; 7) с. 29-31, 38; 8) с. 29; 32-36.

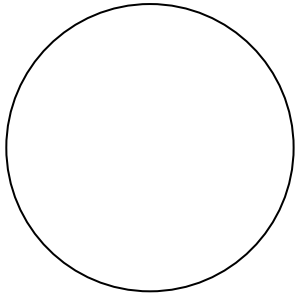
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

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

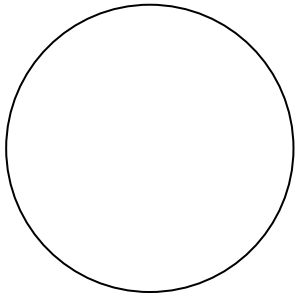


зерна волютину (забарвлення за Леффлером)



зерна волютину (забарвлення за Нейссером)

Завдання № 2: Мікроскопіювати і замалювати препарат капсульних бактерій.



капсули бактерій (забарвлення за Гінсом-Буррі)

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

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: Структура бактеріальної клітини. Методи виявлення спор та кислотостійких бактерій.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Будова, хімічний склад, динаміка утворення спор, функціональне значення. Патогенні спороутворюючі бактерії.
2. Фактори, що забезпечують високу стійкість мікроорганізмів до дії чинників зовнішнього середовища.
3. Забарвлення спор за методами Ожешко та Пєшкова.
4. Кислотостійкі бактерії, особливості їх хімічного складу. Патогенні представники.
5. Метод забарвлення за Цілем-Нільсеном.

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

1. Виготовлення препаратів для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу (мокротиння).
2. Забарвлення препаратів складними методами (за Цілем-Нільсеном).
3. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об’єктивом.
4. Диференціація мікроорганізмів за морфологічними і тинкторіальними ознаками.

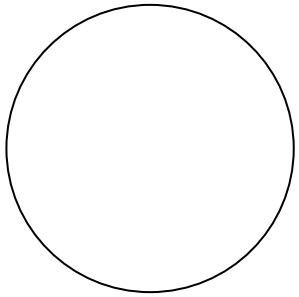
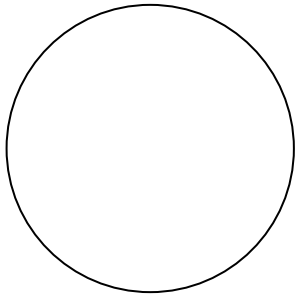
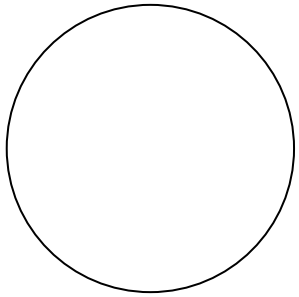
Література:

1) с. 34-35; 38; 274; 2) с. 43-45; 438; 3) с. 35-42; 4) с. 17-18; 23; 5) с. 26; 6) с. 37-38; 502; 115; 7) с. 38-40; 347-348; 8) с. 36-38; 343-344.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

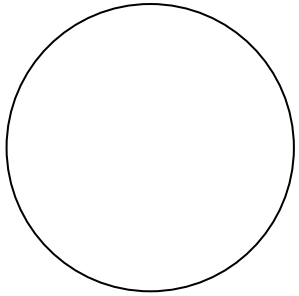
Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати препарати спороутворюючих мікроорганізмів, які забарвлені за методами Ожешко, Пєшкова, Грама.

_____

(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними ознаками, вкажіть метод забарвлення)

Завдання № 2: Виготовити препарат з мокротиння хворого, забарвити за Цілем-Нільсеном. Мікроскопіювати, замалювати.



кислотостійкі бактерії

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 6

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.

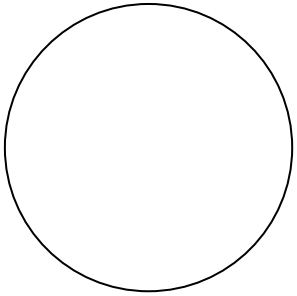
Література:

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.

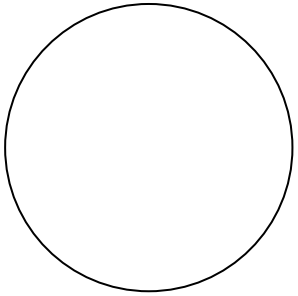
Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

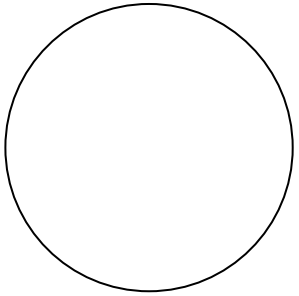
Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати препарати грибів, актиноміцетів.



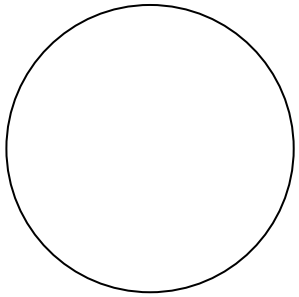
Цвільовий гриб роду Mucor



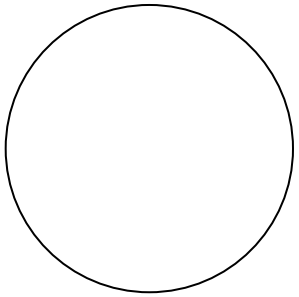
Цвільовий гриб роду Aspergillus



Цвільовий гриб роду Penicillium



Дріжджеподібні гриби роду Candida

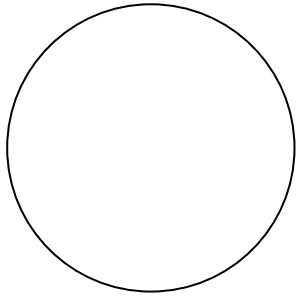


Актиноміцети

_____

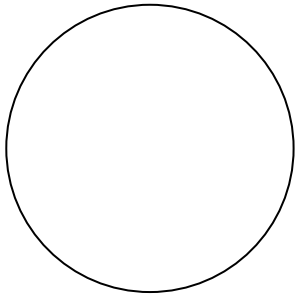
(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними і тинкторіальними властивостями)

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

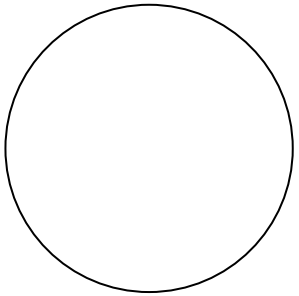


спірохети у зубному нальоті

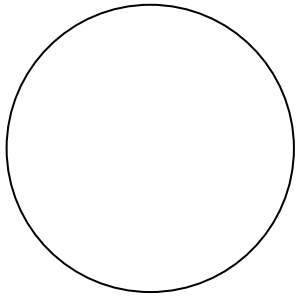
Завдання № 3: Мікроскопіювати і замалювати препарати найпростіших: 1) трипаносоми, 2) трихомонади, 3) лейшманії, 4) малярійний плазмодій.



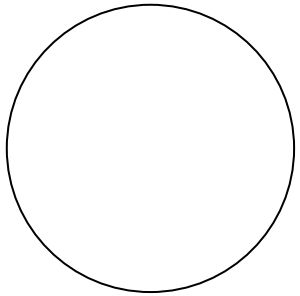
трипаносоми (забарвлення за Романовським-Гімза)



трихомонади (забарвлення метиленовим синім)



лейшманії (забарвлення за Романовським-Гімза)



малярійний плазмодій (забарвлення за Романовським-Гімза)

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 7

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

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Класифікація, морфологія та структура рикетсій.
2. Методи виявлення рикетсій.
3. Хламідії. Морфологія та структура.
4. Методи виявлення хламідій.
5. Мікоплазми. Морфологія та структура.
6. Методи виявлення мікоплазм.

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

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

.

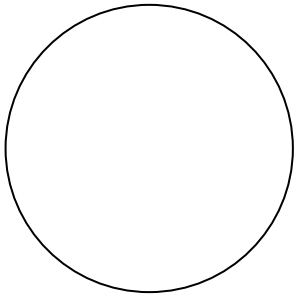
Література:

1) с. 316-317; 326-332; 2) с. 448; 470-473; 3) с. 299, 306, 312; ; 4) с. 187-188; 5) с. 24-25, 194, 212-214; 6) с. 540-542; 659-661; 667-672; 7) с. 43 - 45; 72 - 79; 381-388; 8) с. 374-375; 386-406.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

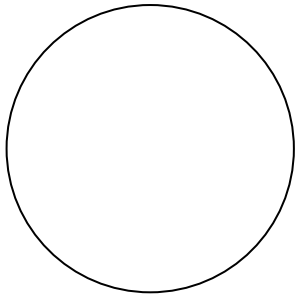
Завдання № 1: Мікроскопіювати і замалювати рикетсії у препараті, який забарвлений за Здродовським.



_____

(охарактеризуйте мікроорганізми за морфологічними ознаками)

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



_____

(позначити інфіковані клітини)

Підпис викладача_____

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 техніки 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 властивостями.
6. Посів досліджуваного матеріалу тампоном, піпеткою і петлею на тверді, напівридкі та рідкі живильні середовища.
7. Забарвлення препаратів складними методами.
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.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

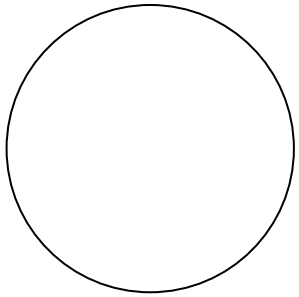
Завдання № 1: Ознайомитись з апаратурою, що використовується для стерилізації. Результати занести до таблиці.

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

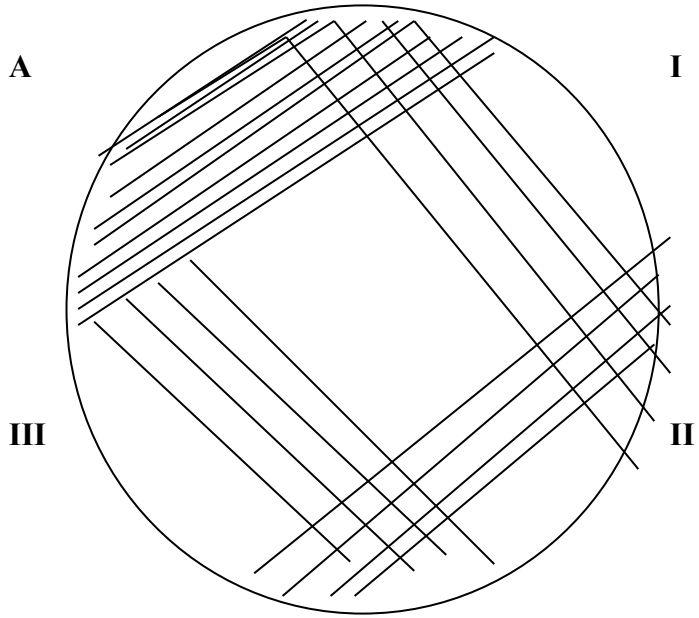
Завдання № 3: Виготовити препарат з патологічного матеріалу, забарвити за методом Грама. Мікроскопіювати, замалювати.



_____

(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.



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.

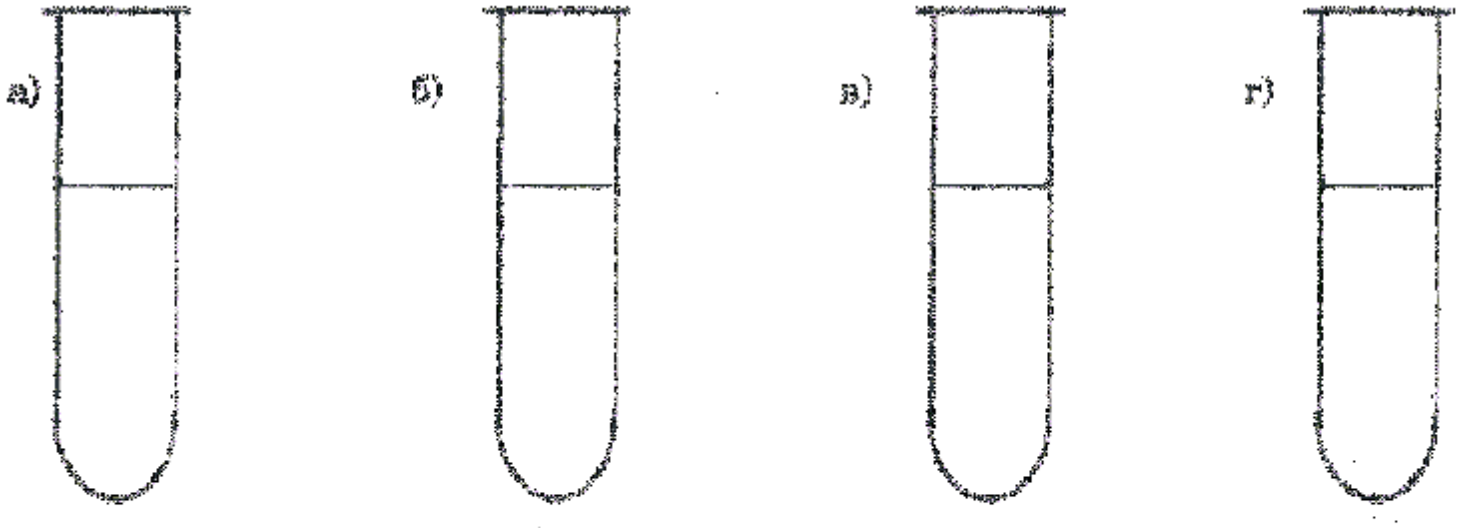
Протокол практичного заняття

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;
в) лептоспіри у середовищі Уленгута; г) стафілокок у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ).

Замалювати і вказати характер росту мікроорганізмів у рідкому живильному середовищі:

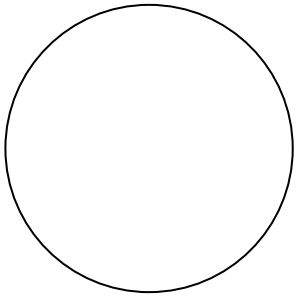


Завдання № 2: Опишіть культуральні властивості бактерій, враховуючи характер росту ізольованих колоній на щільному живильному середовищі (заповніть таблицю).

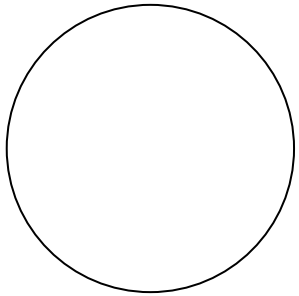
Культуральні властивості	Колонія №1	Колонія №2
Дослідження в прохідному світлі		
Розмір (діаметр)		
Форма обрисів		
Ступінь прозорості		
Дослідження у відбитому світлі		
Колір колонії		
Характер поверхні		
Положення на живильному середовищі		
Мікроскопічне дослідження		
Характер краю		
Структура		
Інші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

Завдання № 3: Виготовити препарати із вивчених ізольованих колоній, забарвити за Грамом. Мікроскопіювати, замалювати.

колонія № 1



колонія № 2



_____

(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Завдання № 4: Пересіяти ізольовані 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:

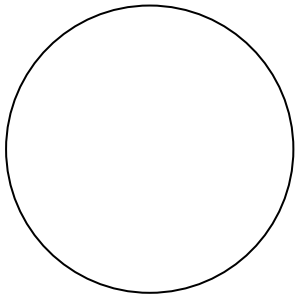
1) с. 49-50; 55-56; 66; 2) с.54-55; 3) с. 66-70; 4) с. 27-29; 5) с. 46-47; 52; 54-56; 6) с. 28-34; 121-123; 125; 7) с.53-56; 69-71; 8) с. 51-59; 72; 113-114.

Протокол практичного заняття

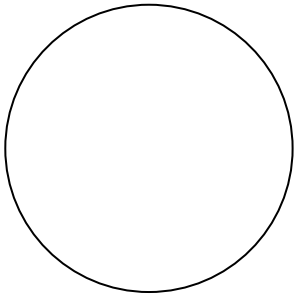
Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Виготовити препарати з чистих культур бактерій № 1 і № 2, забарвити за Грамом. Мікроскопіювати, замалювати.

№1:



№2:



_____

_____

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

Завдання № 2: Пересіяти виділені 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 у середовище Кітта-Тароцці.

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

I етап	II етап	III етап	IV етап
Материал для дослідження Мікроскопічне дослідження Забарвлення (за Грамом) 37°C 24г Поживне середовище	1) макро- и мікроскопічне вивчення культуральних властивостей 2) Забарвлення (за Грамом або другим методом) 3) 37°C 24г	1) Оцінка чистоти культури: а) макроскопічне б) мікроскопічне Забарвлення (за Грамом) 2) Посів на диференційно-діагностичні середовища 3) Зараження лабораторних тварин, вивчення токсиноутворення 4) Постановка серологічних реакцій с діагностичними сироватками 5) Постановка антибіотикограм 6) В чутливості до фагів	**Облік вивчених властивостей:** 1) Морфологичні 2) Тинкторіальні 3) Культуральні 4) Біохімічні (ферментативні) 5) Біологичні (токсигенність вірулентність, та інші.) 6) Антигенні 7) Фаголізабельні 8) Чутливість до антибіотиків
Мета:	Мета:	Мета:	Мета:

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 11

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

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Дихання мікроорганізмів. Типи дихання.
2. Способи створення анаеробних умов для культивування бактерій.
3. Живильні середовища для культивування анаеробів.
4. Виділення чистих культур анаеробних бактерій (1-5 етапи дослідження).

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.29-31; 5) с.52-56; 6) с. 28; 120-123; 28-30; 7) с. 56-62; 8) с. 59-64; 70-75.

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_2S
№1									
№2									

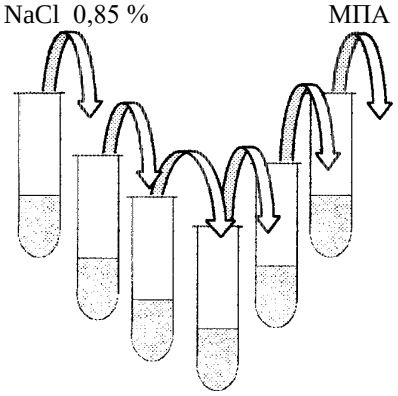
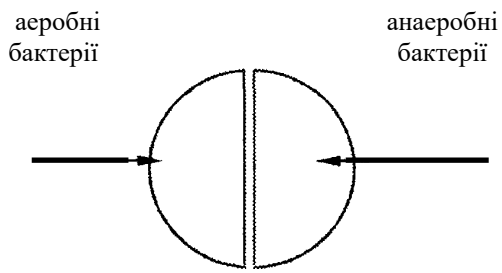
Заповніть таблицю. Вкажіть характер розщеплення вуглеводів (до кислоти – “К” чи до кислоти та газу - “КГ”).

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

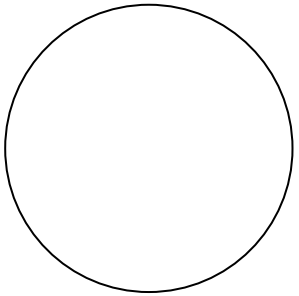
Властивості	Культура № 1	Культура № 2
Морфологічні		
Тинкторіальні		
Культуральні		
Ферментативні		
Висновок	Рід	Рід

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)	Метод: _____ 	Послідовний розподіл суміші бактерій скляним шпателем по поверхні кров'яного цукрового агару у 3-х чашках Петрі. Посів вміщують у анаеростат або інші прилади.
2)	Метод: _____  	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°С м'ясо-пептонним агаром. Посіви ставлять у термостат.
3)	Метод: _____  	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.

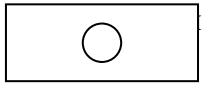
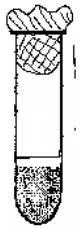
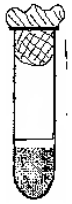
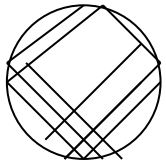
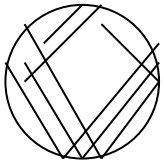
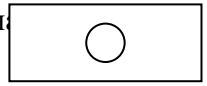
Завдання № 5: Виготувати препарат з культури бактерій, що виросли у середовищі Кітта-Тароцці, забарвити за Грамом. Мікроскопіювати, замалювати.



_____

(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
Досліджуваний матеріал 1) Первинна  Забарвлення (за Грамом) Живильне середовище (Середовище Кітта-Тароцці) 37°C 24г 	 1) макроскопическое изучения 2) еское изучения Забарвлення за Грамом і іншими методами 37°C 24г 	 1) макро- та мікроскопічне вивчення культуральних вл  2) Забарвлення за Грамом та іншим методом 37°C 24г 3) Середовище Кітта-Тароцці	 1) Оцінка чистоти культури: а) макроскопічно б) мікроскопічно 2) Посів на диференційно-діагностичні середовища 3) Зараження лабораторних тварин, вивчення токсиноутворення 4) Постановка серологічних реакцій з діагностичними сироватками 5) Постановка антибіотикограми 6) Вивчення чутливості до фагів	**Облік вивчених властивостей:** 1) Морфологічні 2) Тинкториальні 3) Культуральні 4) Біохімічні (ферментативні) 5) Біологічні (токсигенность вірулентність, і ін.) 6) Антигенні 7) Фаголізабельні 9) Чутливість до антибіотиків
Мета:	Мета:	Мета:		

Підпис викладача:_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 12

Тема: Мікробіологічні основи антимікробної хіміотерапії. Антибіотики.

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. Ускладнення антибіотикотерапії. Дисбактеріози та їх профілактика.
7. Природна та набута стійкість мікроорганізмів до антибіотиків. Генетичні та біохімічні механізми антибіотикорезистентності. Роль плазмід та транспозонів у формуванні лікарської стійкості у бактерій.
8. Шляхи попередження формування резистентності у бактерій до антибіотиків. Принципи раціональної антибіотикотерапії.

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

1. Визначати чутливість мікроорганізмів до антибіотиків.

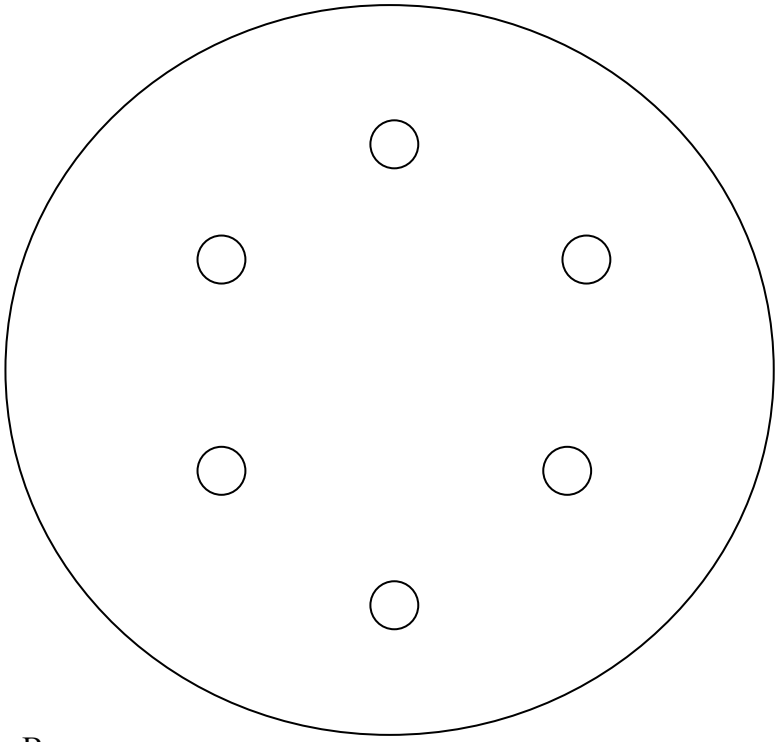
Література:

1) с. 187 - 195; 2) с. 135 - 147; 3) с. 75-76; 4) с. 33 - 34; 5) с. 75 - 78; 6) с. 145 - 164; 7) с. 230 - 252; 8) с. 217 - 226.

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).



№ п\п	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.

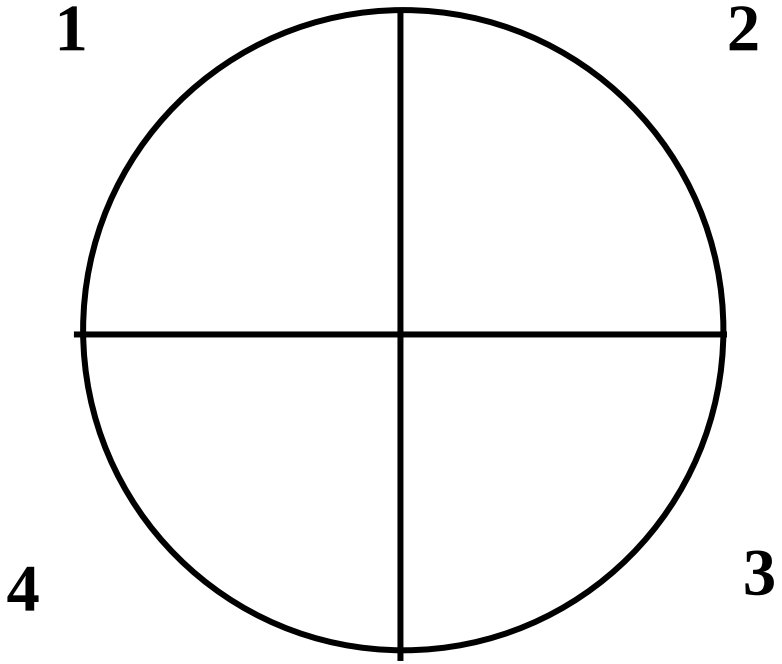
№ пробірок / **Інгредієнти**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9** Контроль культури	**10** Контроль антибіоти-ка
М’ясо-пептонний бульон	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
Розчин антибіотика 16 мкг/мл	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0	-	0,5
Бульонна культура бактерій	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										

1 мл

“+”-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).



Висновок:_____
_____
_____

Підпис викладача_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 13

Тема: Вчення про інфекційний процес. Біологічний метод дослідження.

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 для мікроскопічного дослідження.
4. Забарвлення препаратів складним методом (за Грамом).
5. Мікроскопія препаратів в світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом.

Література:

1) с. 115-137; 2) с. 118; 124-126; 127-131; 3) с. 100-111; 4) с. 69-81; 5) с. 98-102, 115-157; 6) с. 5-11; 136; 7) 145-164; 8) с. 135-150.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

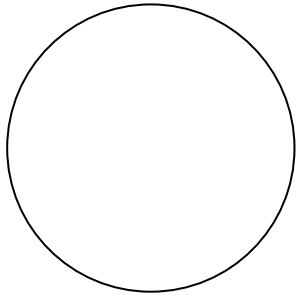
Завдання № 1: Визначити наявність факторів патогенності у досліджуваних культур стафілококів, результати занести до таблиці.

Фактори патогенності	*Культура № 1*	*Культура № 2*
Гемолізини		
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, замалювати.



_____

(охарактеризуйте мікроорганізми з урахуванням морфологічних та тинкторіальних властивостей)

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 14

Тема: Види імунітету. Фактори неспецифічного захисту організму та методи їх дослідження.

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 відсотка фагоцитуючих нейтрофілів, фагоцитарного числа.
5. Гуморальні фактори неспецифічного захисту. Методи їх дослідження.

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.156-158;
5) с. 102-104; 6) с. 77-89; 103; 107-108; 7) с. 164-177; 222- 223;
8) с. 163-170; 203.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Визначити титр лізоциму слини.

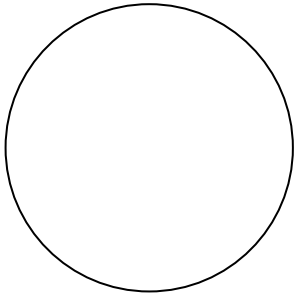
Інгредієнти / Номер пробірок	1	2	3	4	5	6	7	8 Контроль культури
Фізіологічний розчин (мл)	1.8	1	1	1	1	1	1	1
Слина (мл)	0.2 →	1 →	1 →	1 →	1 →	1 →	1 →	1 мл
Розведення	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	-
Тест-культура Micrococcus lysodeikticus (мл)	1	1	1	1	1	1	1	1
Облік результатів								

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

Висновок:_____

_____

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



(забарвлення 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 =

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

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 15

Тема: Набутий імунітет. Антигени і антитіла. Серологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань. 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. Поняття про імунологічну пам'ять та імунологічну толерантність.
7. Серологічні реакції, їх механізми і практичне використання.
8. Основні компоненти серологічних реакцій. Діагностичні імунні сироватки, діагностикуми. Моноклональні антитіла, їх використання.
9. Реакції, засновані на феномені преципітації: кільцепреципітація, флокуляція, преципітація у гелі. Практичне застосування.
10. 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.44-46; 63; 5) с.112-113; 115-117; 7) с.177-200; 220-221; 223; 8) с.170-181; 194-195; 197-200.

Протокол практичного заняття

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

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

Номер пробірок / Інгредієнти (мл)	Дослід	Контроль	Контроль	Контроль
	1	2	3	4
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				

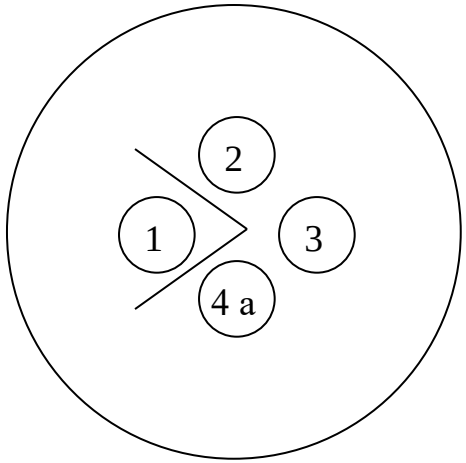
Висновок:

_____

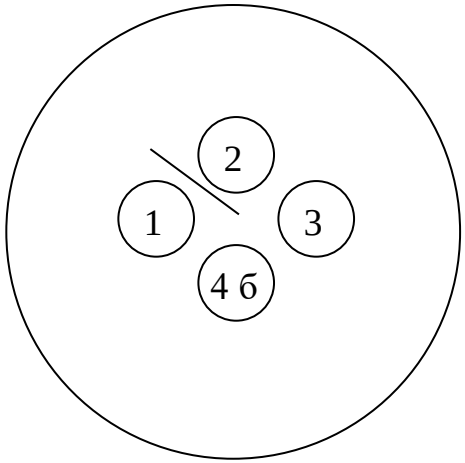
_____

_____

Завдання № 2: Провести облік і оцінити результати реакції преципітації в гелі (демонстрація). Зробити висновок.



Реакція позитивна/негативна *(невірне викреслити)*



Реакція позитивна/негативна *(невірне викреслити)*

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

Висновок:

_____
_____
_____

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 16

Тема: Реакція аглютинації.

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. Реакції, засновані на феномені аглютинації: пряма і непряма аглютинація, реакція гальмування непрямої гемаглютинації, реакція зворотньої непрямої гемаглютинації, реакція Кумбса – антиглобуліновий тест. Інгредієнти, мета.
7. 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).

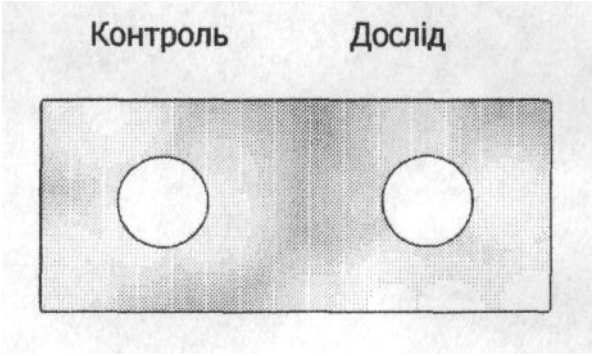
Література:

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; 5) 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.

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 діагностикумом.

Інгредієнти \ Номер пробірок	1	2	3	4	5	6 Контроль діагностикума	7 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							

1 мл

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

Висновок:_____
_____
_____

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

Інгредієнти \ Номер лунок	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							

0,25 мл

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

_____

_____

_____

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 17

Тема: Реакція імунного лізису (бактеріоліз, гемоліз). Реакція зв'язування комплементу (РЗК).

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 результатів реакції, практичне застосування.

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

1. Проводити облік та оцінювати результати реакції зв'язування комплементу.

Література:

1) с. 160-167; 179-180; 2) с. 234-235; 3) с. 140-145; 4) с. 47-54; 5) с. 118-122; 107; 6) с. 105-106; 134-135; 7) с. 200-215; 221-222; 8) с. 185-192; 200-201.

Протокол практичного заняття:

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

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

Інгредієнти (мл) / Номер пробірок	Досліджувана сироватка (розведення 1:10)	Антиген (робоча доза)	Комплемент (робоча доза)	Фізіологічний розчин	37°С – 1 година	Гемолітична система		37°С – 1 година	Облік	
						Гемолітична сироватка	Еритроцити барана		Гемоліз	РЗК
1 (дослід)	0,5	0,5	0,5	-		0,5	0,5			
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:

_____

_____

_____

_____

Підпис викладача_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 18

Тема: Реакції з використанням мічених антигенів та антитіл.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Реакція імунофлюоресценції (РІФ): пряма і непряма.
2. Імуноферментний аналіз (ІФА): прямий, непрямий, твердофазний, конкурентний, імуноблотінг.
3. Радіомунний аналіз (РІА): конкурентний, зворотний, непрямий.
4. Імуноелектронна мікроскопія.
5. Практичне використання зазначених методів дослідження.

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

1. Проводити облік та оцінювати результати реакції імунофлюоресценції, імуноферментного аналізу.

Література:

1) с. 182 - 183; 2) с. 233 - 234; 236-238; 3) с. 145-151; 4) с. 54 - 63; 5) с. 114 -115; 118; 6) с. 117 - 119, 126 -128; 7) с. 223-225; 8) с. 204.

Протокол практичного заняття:

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Замалювати схему прямої і непрямої реакції імунофлюоресценції (РІФ).

пряма РІФ **непряма РІФ**

Завдання № 2: Замалювати схему прямого і непрямого твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА).

прямий ІФА **непрямий ІФА**

Завдання № 3: 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
A												
B												
C												
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.

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Поняття про імунний статус. Імунний статус, як динамічна врівноважена система.
2. Імунодефіцитні стани та причини їх виникнення.
3. Первинні та вторинні імунодефіцитні стани. Особливості імунної відповіді (реактивності) при порушенні найбільш уразливих ланок імунної системи.
4. Показники, що характеризують стан імунної системи організму людини (імунограма):
   а) неспецифічні показники (макрофаги, нормальні кілери, комплемент, інтерферони, лізоцим);
   б) специфічні показники (імуноглобуліни, Т- і В-лімфоцити та їх субпопуляції, індекс стимуляції мітогенами та інші).
5. Методи оцінки загального стану імунної системи та мотиви їх вибору:
   а) імунологічні тести І 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 ІІ рівня (аналітичні): НСТ-тест, визначення ЛКБ, кількості Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій (CD^{4+}, CD^{8+} та інші), специфічних IgE, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), функціональної активності лімфоцитів (реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ).
6. Загальні правила, яких доцільно дотримуватись при інтерпретації імунограм.
7. Практична значимість оцінки імунограм.

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

1. Навчитись заповнювати бланки імунограм.
2. Вміти оцінювати імунограму.

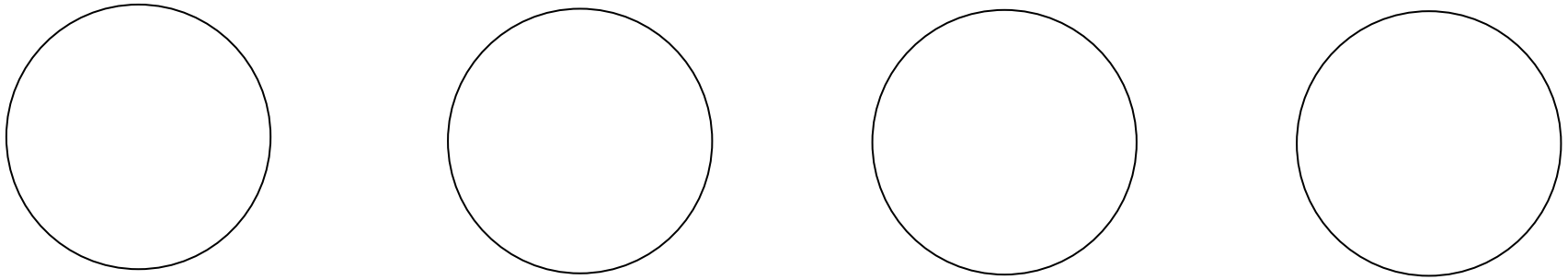
Література: 1) с. 158-160; 183 -187; 2) с. 215-224; 148; 225 - 228; 3) с. 151-160; 4) с.102-107; 123 -125; 5) с. 108 - 112; 6) с.208-209; 216-218; 494-497; 221, 225 - 230; 7) с. 181 – 185; 212 - 216; 8) с. 139 - 141, 170 – 175.

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 диформазану 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 (див. додаток стор. 76-77):

	Обстежувані	
	№1	№2
О - нейтрофіли без гранул		
1- нейтрофіли з одиничними гранулами або з площею забарвленої цитоплазми до 25-30%		
2 – нейтрофіли, цитоплазма яких на 30-70% заповнена гранулами диформазану		
3 - нейтрофіли, цитоплазма яких на 100% заповнена гранулами диформазану		

Розрахувати середній цитохімічний коефіцієнт (СЦК), занести до бланків імунограм.

Обстежуваний № 1 СЦК =

Обстежуваний № 2 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 (див. додаток стор. 74-75):

IgA -1,59 мг/мл; IgM -1,32 мг/мл; IgG - 8,95 мг/мл.

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	б	10	14	2	б	10	14	2	6	10	14
H	2	б	10	14	2	6	10	14	2	6	10	14
	IgA				IgM				IgG			

	Обстежуваний №1	Обстежуваний №2
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				
ЦІК, (умов.од.)	20-80				
Фагоцитоз					
	Спонтанний	Стимульований	Індекс стимуляції		
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			

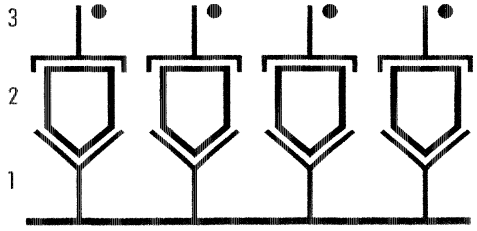
Висновок_____
_____
_____

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 х8, окуляр х10), затемненому полі зору (опущений конденсор або звужена діафрагма) в 100 великих квадратах камери Горяєва, одержане число множать на 50, виражають у вигляді *а· 10^9/л* або *тис/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 непрямої імунофлюоресценції.
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}).

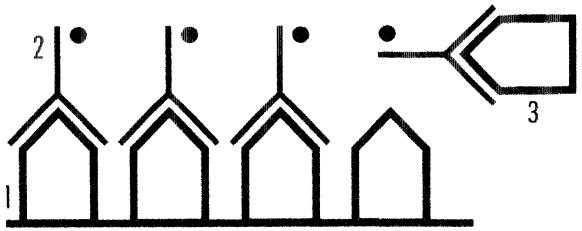
4. Визначення концентрації Ig A, M, G.
Для кількісного визначення імуноглобулінів в сироватці крові та інших біологічних рідинах людини використовують твердофазний метод імуноферментного аналізу (ІФА).
Прямий твердофазний метод ІФА заснований на принципі „сендвіча". Аналіз проводиться в дві стадії.
На першій стадії контрольні зразки з відомою концентрацією імуноглобулінів (A, M, G) і досліджувані проби інкубуються в лунках полістіролового 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 -1g (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 густину 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 імуглобулінами 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 – H_2O_2 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 по калібровочному графіку, або використовують обернено пропорційний розрахунок:

$$\frac{P_к}{P_х} = \frac{C_х}{C_к}$$, де

$P_к$ - оптична густина контрольного зразка,
$P_х$ - оптична густина досліджуваного зразка,
$C_к$ - концентрація імуноглобуліну в контрольному зразку,
$C_х$ - концентрація імуноглобуліну в досліджуваному зразку.
Виходячи з цього:

$$C_х = \frac{P_к \cdot C_к}{P_х}$$

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

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:

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

де *а, 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:

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

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. ЛКТ - 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 слабко виражену позитивну реакцію;
2 - дають виражену позитивну реакцію;
3 - дають яскраво виражену позитивну реакцію.
Розраховують середній цитохімічний коефіцієнт за формулою:

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

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 20

Тема: Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб**.**

Завдання для самостійної роботи:

а) Перелік питань, що підлягають вивченню:

1. Активна і пасивна імунопрофілактика та імунотерапія.
2. Вакцини: типи, одержання, оцінка ефективності та конт роль. Ад'юванти.
3. Вакцинопрофілактика і вакцинотерапія. Аутовакцини.
4. Протипоказання та ускладнення, що спостерігаються при вакцинопрофілактиці і вакцинотерапії. Запобігання ускладнень.
5. Сироватки: класифікація, принципи одержання, очистки і контролю сироваток та імуноглобулінів.
6. Серопрофілактика і серотерапія.
7. Ускладнення при серотерапії та серопрофілактиці. Запобігання ускладнень.

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

1. Проводити облік та оцінювати результати серологічних реакцій.

Література: 1) с.183 -187; 2) с. 225 - 228; 3) с. 160-171; 5) с.123 - 125; 6) с. 108 - 112; 7) с.225 - 230; 8) с. 212 – 216.

Протокол практичного заняття:

Практичні завдання, що підлягають виконанню:

Завдання № 1: Провести облік та оцінити результати реакції флокуляції (РФ). За ініціальною флокуляцією визначити кількість імуногенних одиниць (ІО) в 1 мл анатоксину, користуючись нижченаведеною схемою титрації анатоксину антитоксичною сироваткою відомої сили (800 АО в 1 мл) та поясненням.

Інгредієнти	П р о б і р к и					
	1	2	3	4	5	6
Анатоксин	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Антитоксична сироватка	0,1 мл	0,2 мл	0,3 мл	0,4 мл	0,5 мл	0,6 мл
Результат (флокуляція)						

Пробірки витримують при температурі 45^0С і відзначають ту пробірку, у якій раніше, ніж в інших відбулася флокуляція (+)
Ініціальна флокуляція (найбільш інтенсивна і рання) настає при повній нейтралізації антигену і відсутності невитрачених антитіл. Тобто, в пробірці, де настала ініціальна флокуляція, кількість атитоксичних одиниць (АО) сироватки еквівалентна кількості імуногенних одиниць (ІО) анатоксину:

ІО в 2 мл анатоксину = АО в ____ мл антитоксичної сироватки;
АО в ____мл сироватки = АО в 1 мл сироватки (800 АО) х_____мл сироватки
ІО в 1 мл анатоксину = ІО в 2-х мл анатоксину: 2 = _____ ІО
Висновок:_____
_____
_____
_____
_____

Завдання № 2: Провести облік та оцінити результати реакції флокуляції (РФ). За ініціальною флокуляцією визначити силу антитоксичної сироватки (кількість АО в 1 мл), користуючись нижченаведеною схемою титрації токсину антитоксичною сироваткою та поясненням.

Інгредієнти	П р о б і р к и					
	1	2	3	4	5	6
Токсин	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Антитоксична сироватка	0,1 мл	0,2 мл	0,3 мл	0,4 мл	0,5 мл	0,6 мл
Результат (флокуляція)						

Пробірки витримують при температурі 45^0С і відзначають ту пробірку, у якій раніше, ніж в інших відбулася флокуляція (+).
Ініціальна флокуляція (найбільш інтенсивна і рання) настає при повній нейтралізації антигену і відсутності невитрачених антитіл. Тобто, в пробірці, де настала ініціальна флокуляція, кількість антитоксичних одиниць (АО) сироватки еквівалентна кількості імуногенних одиниць (ІО) токсину:
При титрації антитоксичної сироватки необхідно знати кількість DLM, що міститься в 1 мл токсину і кількість DLM, що нейтралізує 1 АО антитоксичної сироватки.
Нам потрібно протитрувати антитоксичну дифтерійну сироватку.
Відомо, що в 1 мл токсину міститься 5000 DLM, а 100 DLM дифтерійного токсину нейтралізується 1 АО дифтерійної антитоксичної сироватки. Таким чином, 10000 DLM, що містяться в двох мілілітрах токсину, будуть нейтралізовані 100 АО дифтерійної сироватки. Тобто, в пробірці, де настане ініціальна флокуляція, у відповідному об'ємі антитоксичної сироватки буде міститися 100 АО.

Сила антитоксичної сироватки = _____100 АО_____ = __ _____АО
(кількість АО в 1 мл) об'єм (в мл) антитоксичної сироватки в пробірці, де настала ініціальна флокуляція

Висновок:_____
_____
_____
_____
_____

Завдання № 3: 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_____

Дата_____

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 21

Тема: Підсумковий контроль засвоєння модуля 1 “ Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет” (Змістові модулі 1-9).

1. Морфологія і будова бактерій. Роль окремих структур у життєдіяльності бактерій і патогенезі інфекційних захворювань. Особливості морфології і структури еукаріотичної та прокаріотичної клітини.
2. Структура бактеріальної клітини. Морфофізіологічні особливості грампозитивних і грамнегативних бактерій.
3. Особливості структури спірохет, актиноміцетів, рикетсій, хламідій, мікоплазм. Особливості їх метаболізму: розмноження, основні принципи і методи культивування.
4. Мікроскопічний метод діагностики інфекційних захворювань. Світлова мікроскопія, мікроскопія з використанням імерсійного об’єктиву, темнопольна, фазовоконтрастна, люмінісцентна мікроскопія. Електронно-мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів.
5. Живлення бактерій. Аутотрофи і гетеротрофи. Механізми переносу поживних речовин в бактеріальну клітину. Класифікація бактерій за типом живлення.
6. Дихання бактерій. Класифікація бактерій за типом дихання. Метод виділення чистих культур аеробних бактерій, його етапи.
7. Бактеріологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань. Метод виділення чистих культур анаеробних бактерій, його етапи. Способи ідентифікації виділених культур.
8. Ферменти мікроорганізмів, їх роль в обміні речовини. Використання для ідентифікації бактерій. Ферменти патогенності.
9. Основні принципи і методи культивування бактерій. Живильні середовища, вимоги до них. Класифікація живильних середовищ, які використовують у мікробіології.
10. Вплив фізичних, хімічних і біологічних факторів на мікроорганізми. Методи стерилізації, контроль стерилізації.
11. Сучасні уявлення про еволюцію мікроорганізмів. Принципові відмінності у структурі і функціях між прокаріотами (бактерії), еукаріотами (гриби, найпростіші). Сучасна класифікація прокаріотів. Вид, як основна таксономічна одиниця.
12. Позахромосомні фактори спадковості у бактерій. Плазміди, їх властивості. Мігруючі генетичні елементи.
13. Чисті культури мікроорганізмів, їх значення для теорії і практики мікробіології. Принципи виділення і ідентифікації чистих культур.
14. Явище антагонізму у мікробів. Роль вітчизняних вчених у розвитку вчення про антагонізм у мікробів. Історія відкриття перших антибіотиків. Антибіотики, визначення, класифікація антибіотиків за механізмом дії на мікроорганізми.
15. Поняття про хіміотерапію і хіміотерапевтичні препарати. Хіміотерапевтичний індекс. Основні принципи раціональної хіміотерапії. Антибіотики, класифікація за походженням.
16. Антибіотики. Принципи одержання, одиниці вимірювання, застосування. Класифікація за характером та спектром антимікробної дії. Ускладнення антибіотикотерапії.
17. Лікарська стійкість мікробів, її механізми. Методи визначення чутливості мікробів до антибіотиків. Мінімальна пригнічуюча концентрація препаратів (МПК), практичне значення. Принципи раціональної антибіотикотерапії. Принципи боротьби з лікарською

стійкістю мікроорганізмів.

18. Вчення про інфекцію. Роль мікроорганізмів у інфекційному процесі. Патогенність, вірулентність, одиниці вимірювання, способи визначення. Фактори патогенності мікроорганізмів. Облігатно-патогенні, умовно-патогенні, непатогенні мікроорганізми.
19. Вчення про інфекцію, роль макроорганізму в інфекції. Вплив зовнішнього середовища і соціальних умов на появу і розвиток інфекційного процесу у людини. Умови виникнення інфекційного процесу. Ворота інфекції.
20. Токсини мікрооранізмів, їх класифікація, властивості, механізм дії. Роль в патогенезі та імуногенезі інфекційних захворювань, одиниці виміру сили екзотоксинів.
21. Шляхи проникнення збудників захворювання в організм. Поширення мікробів та їх токсинів в організмі. Бактеріємія, токсинемія, сепсис і їх наслідки. Мікробоносійство. Динаміка розвитку інфекційної хвороби, її періоди.
22. Форми інфекції: екзогенна, ендогенна, вогнищева, генералізована, моноінфекція, мішана, вторинна, реінфекція, суперінфекція, рецидив, гостра, хронічна, персистуюча інфекція. Антропонозні, зоонозні, антропозоонозні та сапронозні інфекції. Шляхи передачі інфекції.
23. Визначення поняття “імунітет”. Види імунітету: спадковий і набутий, природний і штучний, активний і пасивний, місцевий і загальний, стерильний і нестерильний. Імунологічні методи дослідження.
24. Фактори неспецифічного захисту організму. Бар’єрні та антимікробні властивості шкіри, слизових оболонок. Роль нормальної мікрофлори у неспецифічному захисті.
25. Неспецифічні клітинні фактори захисту організму від патогенних мікробів. Фагоцитоз, види фагоцитуючих клітин. Стадії фагоцитозу, роль опсонінів. Завершений і незавершений фагоцитоз. Методи вивчення фагоцитарної активності. Значення фагоцитозу у несприйнятливості.
26. Гуморальні фактори неспецифічного захисту. Комплемент, його компоненти, роль в імунологічних реакціях, шляхи активації. Лізоцим, білки гострої фази.
27. Гуморальні фактори неспецифічного захисту. Цитокіни. Інтерферони. Класифікація, індуктори, біологічні функції.
28. Імунна система організму, її функції. Центральні та периферічні органи імунної системи, її роль в імунологічному захисті.
29. Імунокомпетентні клітини. В-лімфоцити, їх субпопуляції, функції, методи кількісної оцінки. Поверхневі маркери і рецептори. Кооперація між імунокомпетентними клітинами в процесі формування імунної відповіді.
30. Імунокомпетентні клітини. Т-лімфоцити, їх субпопуляції, фунції, методи кількісної оцінки. Поверхневі маркери і рецептори цих клітин. Кооперація між імунокомпетентними клітинами в процесі формування імунної відповіді.
31. Антигени як індуктори імунної відповіді. Повноцінні і неповноцінні антигени. Антигенна структура бактерій, їх роль в інфекційному процесі та розвитку імунної відповіді.
32. Антигени. Локалізація, хімічний склад і специфічність антигенів вірусів, ферментів, токсинів, їх роль в інфекційному процесі та розвитку імунної відповіді. Антигени гістосумісності людини. Аутоантигени.
33. Антитіла, їх природа. Структура і функції імуноглобулінів. Динаміка продукції антитіл. Первинна та вторинна імунна відповідь. Моноклональні антитіла, їх використання.
34. Класи імуноглобулінів, їх структура і властивості. Методи визначення концентрації імуноглобулінів. Антигенна будова імуноглобулінів: ізотипові, алотипові, ідиотипові детермінанти. Аутоантитіла.
35. Імунологічна толерантність, природна та набута. Механізм толерантності. Практичне використання толерантності в медицині.
36. Гуморальна імунна відповідь і її етапи. Первинна і вторинна імунна відповідь.

37. Антигенпрезентуючі клітини. Триклітинна схема кооперації імунної відповіді. Участь макрофагів, Т- і В-клітин. Взаємодія клітин імунної системи в процесі імунної відповіді. Інтерлейкіни.
38. Серологічні реакції, їх характеристика, основні компоненти, типи. Реакція зв'язування комплемента, її суть і значення.
39. Реакція аглютинації і преципітації, механізми реакцій. Практичне застосування.
40. Реакції з використанням мічених антигенів і антитіл. Механізм і практичне застосування імуноферментного (ІФА) і радіоімунного (РІА) аналізів.
41. Реакції з використанням мічених антитіл і антигенів. Механізм і практичне застосування реакції імунофлюоресценції (РІФ).
42. Препарати для активної імунопрофілактики. Сучасна класифікація вакцин. Способи виготовлення, оцінка ефективності та контроль.
43. Хімічні вакцини і вакцини з убитих мікробів. Принципи одержання і контроль, використання, оцінка. Асоційовані вакцини. Аутовакцини.
44. Анатоксини, їх одержання, очищення, одиниці вимірювання, використання, оцінка.
45. Живі вакцини, принципи одержання, контроль. Практичне використання живих вакцин, оцінка.
46. Імунні сироватки, класифікація. Принципи одержання, одиниці вимірювання, контроль. Практичне застосування.
47. Вчення про генетику мікрорганізмів. Організація генетичного апарату бактерій. Генотипова і фенотипова мінливість у мікроорганізмів. Практичне значення. Дисоціація у бактерій. Генетичні методи в діагностиці інфекційних захворювань та в ідентифікації бактерій.
48. Сучасні методи лабораторної діагностики інфекційних захворювань

Питання до іспиту з практичних навичок (модуль 1)

1. Мікроскопіювати препарат, визначити метод забарвлення, морфологію та тинкторіальні властивості бактерій. (препарати для мікроскопії: 1) стафілокок, 2) стрептокок, 3) монобактерії Гр-, 4) капсульні бактерії, 5) спори за Ожешко, 6) спори за Пєшковим, 7) спори за Грамом, 8) дріжджоподібні гриби, 9) незавершений фагоцитоз диплококів).
2. Приготувати препарат з культури бактерій, вирощеної на щільному живильному середовищі, забарвити за Грамом-Синьовим. Мікроскопіювати, визначити морфологію та тинкторіальні властивості.
3. Приготувати препарат з культури бактерій, вирощеної на щільному живильному середовищі, забарвити простим методом. Мікроскопіювати, визначити морфологію.
4. Приготувати препарат з харкотиння хворого, забарвити за Цілем-Нільсеном, мікроскопіювати, визначити морфологію.
5. Принциповий склад та механізм дії середовища Ендо. Практичне застосування.
6. Принциповий склад та механізм дії середовища Левіна. Практичне застосування.
7. Принциповий склад та механізм дії середовища Плоскирева. Практичне застосування.
8. Практичне застосування середовища Кітта-Тароцці, принциповий склад та механізм дії. Практичне застосування.
9. Провести облік біохімічних властивостей виділеної чистої культури бактерій. Зробити висновок.
10. Визначити чутливість культури стафілокока до антибіотиків методом діагностичних дисків. Провести облік, зробити висновок.
11. Визначити мінімальну пригнічуючу концентрацію культури стафілокока для цефазоліну за методом серійних розведень. Провести облік, зробити висновок.
12. Поставити реакцію термокільцепреципітації за Асколі з метою виявлення антигенів збудника сибірки у досліджуваному екстракті з тваринницької сировини. Провести облік, зробити висновок.
13. Поставити реакцію аглютинації на склі з невідомою культурою і черевнотифозною діагностичною аглютинуючою сироваткою. Провести облік, зробити висновок.
14. Провести облік РЗК з сироваткою хворого та гонококовим діагностикумом, зробити висновок.
15. Описати культуральні властивості бактерій на щільному живильному середовищі.
16. Визначити титр лізоциму слини за методом серійних розведень.
17. Зробити облік і оцінити результати реакції преципітації в гелі, поставленої з метою визначення токсигенності досліджуваних культур коринебактерій дифтерії.
18. Провести облік і оцінити результати розгорнутої реакції аглютинації з сироваткою хворого і черевнотифозним діагностикумом.
19. Провести облік та оцінити результати реакції непрямої гемаглютинації (РНГА), поставленої з сироваткою хворого і еритроцитарним туляремійним діагностикумом.
20. Провести облік та оцінити результати імуноферментного аналізу (ІФА) з метою виявлення антитіл до антигенів збу
    дника сифілісу.

З М І С Т

Методичні матеріали для студентів 2 – 3 курсу медичного факультету……...4

1. Принципи організації, апаратура і режим роботи мікробіологічної лабораторії Методи мікроскопічного дослідження. Бактеріоскопічний метод діагностики інфекційних захворювань.....16

2. Морфологія бактерій. Техніка виготовлення препаратів з культур бактерій і патологічного матеріалу. Прості методи забарвлення.....19

3. Структура бактеріальної клітини. Складні методи забарвлення. Метод Грама.....…..22

4. Структура бактеріальної клітини: включення, капсула, джгутики. Методи їх виявлення.....….24

5. Структура бактеріальної клітини. Методи виявлення спор та кислотостійких бактерій.....…...26

6. Морфологія і структура спірохет, актиноміцетів, грибів та найпростіших. Методи вивчення їх морфології.....…..28

7. Морфологія та структура рикетсій, хламідій, мікоплазм . Методи їх виявлення.....……...31

8. Культивування бактерій, живильні середовища. Методи стерилізації, дезінфекції. Методи виділення чистих культур аеробних бактерій (1-й етап дослідження). Бактеріологічний (культуральний) метод діагностики інфекційних захворю вань.....……...33

9. Виділення чистих культур аеробних бактерій (2-й етап дослідження). Культуральні властивості бактерій……..…..37

10. Виділення чистих культур аеробних бактерій (3-й та 4-й етапи дослідження). Методи вивчення ферментативної активності бактерій.....….....41

11. Методи виділення чистих культур анаеробних бактерій (1-5 етапи дослідження).....….. 44

12. Мікробіологічні основи антимікробної хіміотерапії. Антибіотики.....….49

13. Вчення про інфекційний процес. Біологічний метод дослідження.....…...53

14. Види імунітету. Фактори неспецифічного захисту організму та методи їх дослідження.....…...55

15. Набутий імунітет. Антигени і антитіла. Серологічний метод мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань. Реакції преципітації та нейтралізації.....…58

16. Реакція аглютинації.....….61

17. Реакція імунного лізису (бактеріоліз, гемоліз). Реакція зв'язування комплементу (РЗК).....65

18. Реакції з використанням мічених антигенів та антитіл.....67

19. Імунний статус людини та методи його оцінки. Природні та набуті імунодефіцитні стани.....71

20. Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб.....81

21. Підсумковий контроль засвоєння модуля 1 " Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет" (Змістові модулі 1-9)…….86

22. Питання до іспиту з практичних навичок (модуль 1) …….