### Методические материалы для СТУДЕНТОВ по ОРГАНИЗАЦИИ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ по дисциплине:

#### Микробиология

основная профессиональная образовательная программа высшего образования

- программа специалитета

КОД Наименование ОП: 31.05.01 Лечебное дело

# ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Занятие № 8

- **Цель**: Знать таксономическое положение и биологические свойства возбудителей внутрибольничных инфекций;
- **Уметь** подобрать материал и методы исследования;
- **Владеть** оценкой результатов микробиологических исследований.

#### Клиническая микробиология

- - изучает взаимоотношения между организмом и микробами в норме, при патологии, в динамике воспалительного процесса с учетом проводимого лечения.
- - исследует условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), вызывающие оппортунистические инфекции.

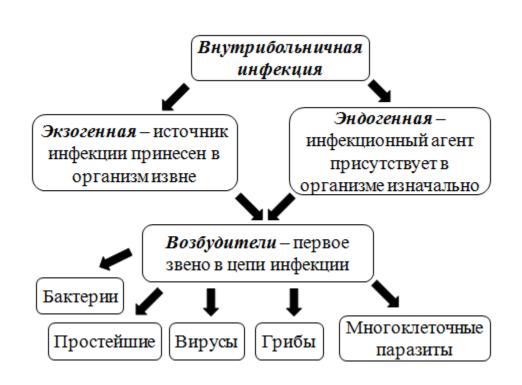
## Задачи клинической микробиологии:

- 1.Изучение роли УПМ в этиологии и патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний человека.
- 2. Разработка **методов микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики** заболеваний, вызванных УПМ.
- 3.Исследование **лекарственной устойчивости УПМ и ее преодоление.**
- **4.Микробиологический контроль** за антимикробными мероприятиями в больничных стационарах.

## Внутрибольничная (госпитальная) инфекция:

- - это инфекция, заражение которой происходит в больничных учреждениях;
- наслаиваясь на основное заболевание, она утяжеляет клиническое течение, затрудняет диагностику и лечение, ухудшает исход заболевания;
- часто связанна с медицинскими вмешательствами.

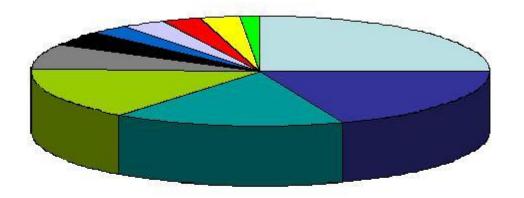
- Для возникновения ВБИ необходимо наличие следующих звеньев инфекционного процесса:
- источник инфекции (пациент, медработник);
- возбудитель (микроорганизм);
- факторы передачи;
- восприимчивый организм.



#### Госпитальный штамм

- это микроорганизм, изменившийся в результате циркуляции в отделении по своим генетическим свойствам, в результате мутаций или переноса генов и имеющий несвойственные «дикому» штамму характерные черты, позволяющие ему выживать в условиях стационара.
- Основные черты приспособления это устойчивость к одному или нескольким антибиотикам широкого спектра действия, устойчивость в условиях внешней среды, снижение чувствительности к антисептикам. Госпитальные штаммы очень разнообразны, в каждой больнице или отделении возможно появление своего характерного штамма со свойственным только ему набором биологических свойств.

#### Спектр возбудителей госпитальных инфекций



P.aeruginosa

E.coli

Proteus spp.

- S.aureus
- Staphylococcus spp. E.faecium

K.pneumoniae

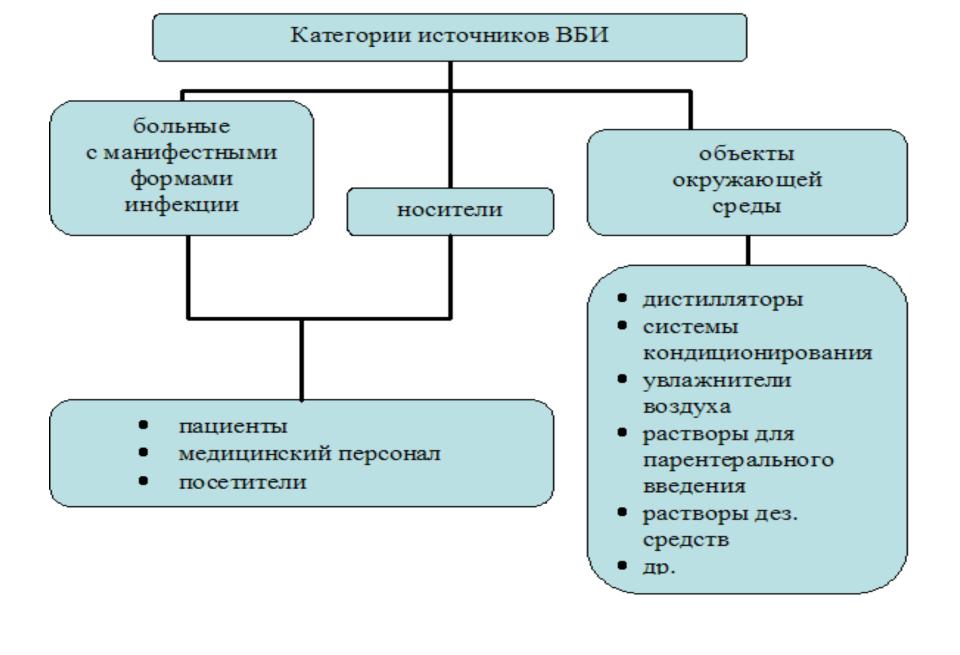
C.fruendi

A.lwoffi

E.aerogenus

K.oxitoca

- В этиологии внутрибольничных инфекций велика роль **вирусов**:
- простого герпеса, аденовирусов, вируса гриппа, энтеровирусов и др.
- Также внутрибольничные инфекции могут быть вызваны условно-патогенными и патогенными **грибами** (дрожжеподобными, плесневыми, лучистыми).



## Классификация внутрибольничных инфекций

- <u>По длительности течения ВБИ</u> делятся на острые, подострые и хронические.
- По тяжести клинических проявлений: легкие, среднетяжелые и тяжелые формы.
- В зависимости <u>от степени</u> <u>распространенности</u> инфекционного процесса различают: генерализованные и локализованные формы внутрибольничной инфекции.

### Среди локализованных форм выделяют:

- 1. Инфекции кожи, слизистых и подкожной клетчатки, в т. ч. послеоперационных, ожоговых, травматических ран.
- 2. Инфекции полости рта и ЛОР-органов.
- 3. Инфекции пищеварительной системы.
- 4. Инфекции урогенитального тракта.
- 5. Инфекции костно-суставной системы.
- и другие

#### ЯТРОГЕННЫЕ ИНФЕКЦИИ

- Являются разновидностью госпитальной инфекции, вызванной непосредственно при диагностических манипуляциях.
- Чаще всего заражение происходит при использовании не стерильного инструментария.

### Оппортунистические инфекции

- - вызываются УПМ: Staphylococcus, Streptococcus, Escherichia, Klebsiella, Pseudomonas, Bacteroides, Fusobacterium, грибы рода Candida.
- Одни из них могут обитать в пищевых продуктах, воде, почве.
- Другие входят в состав нормальной микрофлоры организма человека и животных.

#### УПМ

• Условно-патогенные микробы, обладая низкой степенью патогенности для человека, проявляют свои патогенные свойства только при определенных условиях, например при снижении иммунного статуса организма.

#### УПМ

- УПМ повреждают клетки и ткани организма хозяина эндотоксинами и ферментами агрессии (продуцируют гиалуронидазу, эластазу, коагулазу, фибринолизин, нейраминидазу, лецитиназу, нуклеазы).
- токсическим действием обладают продукты ферментативного распада -мочевина, сероводород.

#### УПМ

- характеризуются устойчивостью к антибиотикам, антисептикам, физическим факторам, бактериофагам.
- - обладают гетерогенностью антигенной структуры, которая создает сложности в
- идентификации выделенных культур.

### Эпидемиология оппортунистических инфекций

- Источник инфекции больной человек или носитель, животные, объекты внешней среды.
- Наибольшую опасность в эпидемиологическом плане представляет медперсонал больничных учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов УПМ, например стафилококков.
- Пути передачи аэрогенный, контактный, трансмиссивный, алиментарный.

### Оппортунистические инфекции:

- - развиваются на фоне снижения иммунного статуса организма: у онкологических больных, больных хроническими заболеваниями, лиц преклонного возраста, недоношенных младенцев, больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, при сахарном диабете.
- - протекают в форме гнойно-воспалительных процессов различной локализации и степени
- тяжести.

- Так как УПМ являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то подавляющее большинство оппортунистических инфекций носит эндогенный характер.
- УПМ приобретают способность преодолевать тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые, и транслоцироваться во внутреннюю среду организма. Попадание УПМ во внутреннюю среду организма влечет колонизацию ими различных органов и систем организма, что клинически проявляется в виде гнойносептического процесса различной локализации и степени тяжести.

## Особенности оппортунистических инфекций:

- 1. Возбудители не имеют органного тропизма: один и тот же микроорганизм может вызвать различные заболевания.
- 2. Полиэтиологичность заболевание
- может быть вызвано любым УПМ.
- 3. Клиническая картина определяется пораженным органом.

## Особенности оппортунистических инфекций:

- 4. Часто протекают как смешанные инфекции.
- 5. Болезнь протекает медленно, имеет хроническое течение, развивается вторичный иммунодефицит.
- 6. Имеют тенденцию к генерализации процесса, развитию септикопиемии.
- 7. Трудности лечения обусловлены множественной антибиотикорезистентностью.

#### Микробиологическая диагностика

- 1. Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (10⁵КОЕ/мл и более).
- 2. Бактериологический метод основной.

### Бактериологический метод

- Материал для исследования:
- 1. Материал берут из очага инфекции. Вид материала определяется клинической картиной заболевания.
- 2. Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.
- 3. Материал берут в начальном периоде болезни до начала антибактериальной терапии.

## Этапы бактериологического исследования:

• 1. Готовят разведения патологического материала в растворе хлорида натрия и делают высев 0,1 мл материала из разведений на чашки Петри с питательной средой-газоном (на 3 чашки из каждого разведения).

В стандартный набор питательных сред включают: желточно-солевой агар (для стафилококков), среду Эндо (для энтеробактерий), кровяной агар (для стрептококков), среду Сабуро (для грибов), среду Китта-Тароцци (для анаэробов).

### Этапы бактериологического исследования:

- 2. Описывают характер роста на питательных средах. Изучают морфологические, тинкториальные, культуральные признаки.
- Подсчитывают количество колоний каждого типа на чашках с посевом. Для расчета обсемененности материала используют формулу: (A) КОЕ = N x ПД x СР, где N —
- число колоний, ПД посевная доза, СР степень разведения.

## Этапы бактериологического исследования:

- 3. Выделяют чистые культуры и проводят идентификацию по биохимическим и антигенным признакам.
- Определяют факторы патогенности и эпидемиологические маркеры (фаговары)
- Определяют антибиотикограмму.

#### Лечение

- Комплексное лечение включает адекватное хирургическое вмешательство, рациональную антимикробную терапию, иммунотерапию.
- Учитывая широкое распространение среди УПМ множественной лекарственной устойчивости к антибиотикам, назначать эти
- препараты больным необходимо с учетом результатов определения антибиотикограммы.

### Профилактика

- Профилактика оппортунистических инфекций проводится в трех направлениях:
- 1. выявление источника инфекции;
- 2. разрыв механизмов, путей и факторов передачи, соблюдение санитарно-гигиенического режима, правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации;
- 3. воздействие на восприимчивый коллектив.

### Профилактика

• Так как распространение госпитальных штаммов часто связано с носителями из числа медперсонала, необходимо выявлять и санировать этих носителей.

### Синегнойная инфекция

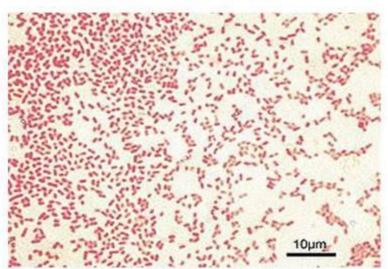
- Семейство: Pseudomonaceae
- Род: **Pseudomonas**
- Вид: **Ps.aeruginosa**
- Описан А. Люкке в 1862г.
- Выделен в чистой культуре С. Жессаром в 1882г.



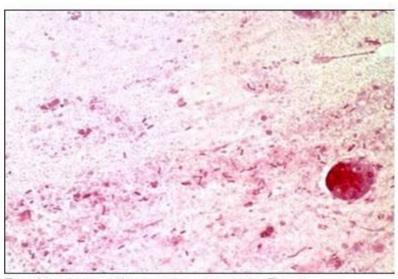
#### Ps.aeruginosa

- Грам «-» палочки, расположены попарно или короткими цепочками.
- Подвижны. Спор не образуют.
- Имеют пили IV типа.
- Образуют полисахаридную капсулу.

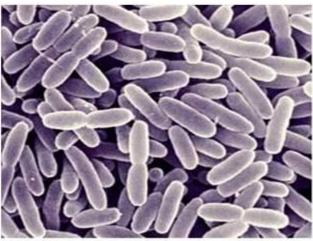
#### Синегнойная палочка



Pseudomonas aeruginosa, чистая культура, окраска по Граму.



Pseudomonas aeruginosa в гное, окраска по Граму.



Pseudomonas aeruginosa, электронная фотография.

- Облигатные аэробы.
- Хорошо размножаются на простых питательных средах, образуя гладкие слизистые колонии сине-зеленого цвета, с окрашиванием среды (пигмент пиоцианин)
- и запахом жасмина.
- На жидкой питательной среде образуют серебристого цвета пленку.
- Температура роста от 37 до 42 С.

Пигмент Pseudomonas aeruginosa





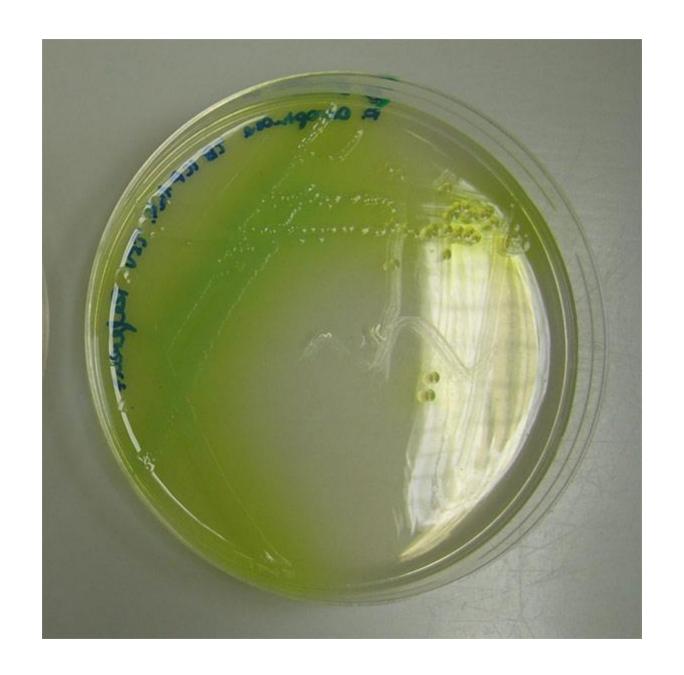
### Культуральные свойства P.Aeruginosa



Рост колоний синегнойной палочки.



Pseudomonas aeruginosa, чистая культура.



- Не ферментирует углеводы.
- Ps.aeruginosa обладает способностью окислять глюкозу в аэробных условиях.
- Разжижает желатину.
- Имеет каталазу.
- Гидролизует казеин.
- Продуцирует бактериоцины.

### Антигены Ps.aeruginosa

- ЛПС клеточной стенки является типоспецифическим **термостабильным О-антигеном**.
- Термолабильный жгутиковый Н-антиген.
- На поверхности клеток синегнойной палочки обнаружены **антигены пилей.**

# Ps.aeruginosa Факторы патогенности:

- 1. Пили IV типа (адгезия и колонизация)
- 2. Экзотоксин A цитотоксические свойства, подавляет синтез белка в клетках и тканях, подавляет синтез иммуноглобулинов.
- 3. Экзотоксин S- подавляет фагоцитоз.
- 4. Лейкоцидин цитотоксин.

# Ps.aeruginosa Факторы патогенности

- 5. Энтеротоксин.
- 6. Нейраминидаза.
- 7. Эластаза и экзотоксин А вызывают кровоизлияния, деструкцию тканей и некроз в очагах поражения.
- 8. Фосфолипаза разрушает фосфолипиды.

### Ps.aeruginosa Резистентность

- Сохраняет жизнеспособность при полном отсутствии источников питания.
- Устойчива к дезинфицирующим растворам.
- Устойчива к антибиотикам.
- Хорошо сохраняется в морской, речной, дистиллированной воде.
- Чувствительна к высушиванию, высоким температурам, хлорсодержащим веществам.

### Ps.aeruginosa Эпидемиология и патогенез

- Источники инфекции: больные люди, носители, объекты внешней среды.
- Пути заражения: контактный, аэрогенный, кровяной, алиментарный.
- Является возбудителем внутрибольничных инфекций.
- Вызывает гнойно-воспалительные заболевания различных органов и систем с летальностью до 50%.

- Проникает в организм через поврежденные ткани.
- Вызывает локальную и генерализованную (сепсис) инфекции.
- Раневые инфекции, ожоговая болезнь, менингиты, пневмония, инфекции мочевыводящих путей.

- Синегнойная палочка является возбудителем внутрибольничных (госпитальных) инфекций.
- Заражение синегнойной инфекцией в клинике связано с медицинскими манипуляциями (катетеризация мочевого пузыря, эндоскопическое исследование).

- Синегнойные палочки проникают в организм через поврежденные ткани.
- Прикрепляясь, они заселяют раневую или ожоговую поверхность, слизистые оболочки, кожу и размножаются.
- Бактериемия приводит к распространению возбудителя и развитию сепсиса, формированию вторичных гнойных очагов инфекции.
- Происходит нарушение функционирования органов и систем.

### Ps.aeruginosa Микробиологическая диагностика

- Материал для исследования: кровь, раневое отделяемое, мокрота, моча.
- Основной метод Бактериологический.
- Серологический метод направлен на обнаружение специфических антител.

### Ps.aeruginosa Лечение

- 1. Комбинация антибиотиков
- 2. Гипериммунная плазма
- 3. Антисинегнойный иммуноглобулин
- 4. Синегнойный бактериофаг
- ПРОФИЛАКТИКА:
- Поливалентная синегнойная корпускулярная вакцина

# Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез

- Этиология: Возбудителями внутрибольничного сальмонеллеза являются антибиотикорезистентные штаммы различных сероваров *S. enterica*:
- S.typhimutium, S.enteritidis, S.infants.
- Для них характерны наличие особой плазмиды и изменение биохимических свойств.

- Источником инфекции и основным резервуаром являются дети и взрослые, находящиеся в стационаре.
- В процесс вовлекаются дети в возрасте до І года, а также взрослые пациенты хирургических и реанимационных отделений, лица пожилого возраста.

 Передача сальмонелл при внутрибольничном сальмонеллезе осуществляется контактно-бытовым и алиментарным путями.

#### Клиническое течение

- Характеризуется длительным инкубационным периодом от 8 до 30 сут.
- Проявление болезни варьирует от бессимптомного носительства до выраженных кишечных расстройств с развитием системной инфекции, осложненной септикопиемией.
- Иммунитет не формируется.
- Профилактика осуществляется бактериофагом.
- Лечение: антибиотики.

- Название род получил в честь греческого бога Протея, способного принимать
- различные обличия.
- Виды: *P. vulgaris*

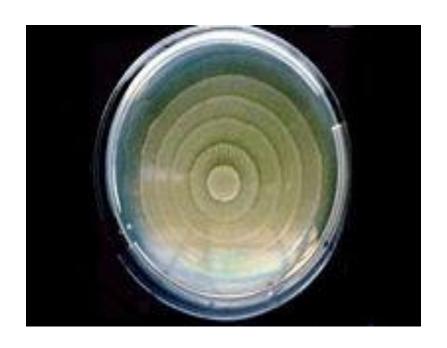
- Морфология.
- Грам «-» палочки располагаются попарно или цепочками, не образуют капсулу, подвижны.
- Культуральные свойства.
- Хорошо растут на обычных питательных средах. Образуют два типа колоний: отросчатые и крупные с ровными краями.



# Proteus рост на питательной среде



# Proteus рост на питательной среде



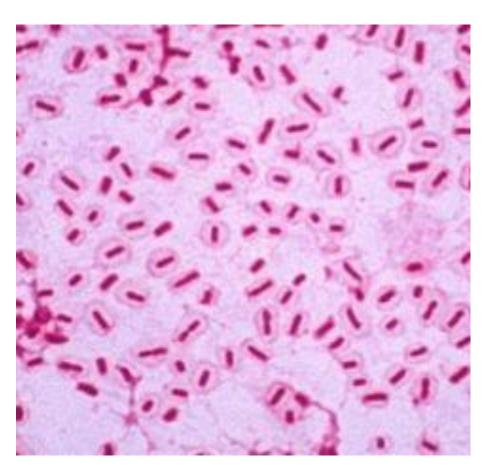
- Обладают выраженной биохимической активностью. Являются **гнилостными микроорганизмами**, способными
- окислять белки до а-кетокислот и аммиака.
- Основными биохимическими признаками являются:
- • расщепление мочевины;
- • продукция сероводорода;
- • отсутствие расщепления лактозы;
- • разжижение желатины.

- Антигенная структура: О- и Н-антигены.
- Резистентность:
- Устойчивы к воздействию факторов окружающей среды.
- Переносят нагревание до 60 °C 1 ч.
- Длительно сохраняются в растворах фенола и дезинфицирующих веществ.

- Вызывают **гнойно-септическую инфекцию, внутрибольничную** инфекцию.
- Наиболее часто протей вызывает инфекцию мочевыводящей системы.
- Микробиологическая диагностика. Используют бактериологический метод.
- Лечение: протейный бактериофаг и антибиотики.

### Po∂ Klebsieilla

- Виды:
- K. pneumoniae,
- K. oxytica,
- K. granulomatis.
- Грам «-» палочки,
- неподвижны,
- имеют капсулу.



# Klebsieilla, рост на питательной среде.



### Klebsieilla

- Ферментируют лактозу Расщепляют мочевину
- **Антигены**: О, К.
- Факторы патогенности:
- Капсула- обеспечивает устойчивость к фагоцитозу.
- Пили IV типа адгезия.
- Энтеротоксин.
- Ферменты «агрессии»: нейраминидаза, ДНКаза, фосфатаза.

### Клебсиеллы

- Являются одними из ведущих возбудителей внутрибольничных инфекций, которые протекают с поражением дыхательных и мочевыводящих путей, вызывают гнойные послеродовые осложнения и неонатальную инфекцию новорожденных, которая
- протекает в виде **пневмонии, кишечных расстройств и токсикосептических состояний**, заканчивающихся летально.

- *К. oxytica* является возбудителем внутри-
- больничных инфекций в урологических клиниках.
- Микробиологическая диагностика: бактериологический метод.
- Серологическая диагностика:
- РСК с О-антигенами.
- Лечение: клебсиеллезный бактериофаг,
- антибиотики.

#### СОСТАВИТЕЛИ:

Коллектив кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ИОЗ имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Под редакцией академика РАН, профессора В.В. Зверева

# ИНДИВИДУАЛЬНАЯ КАРТА УЧЁТА РЕЙТИНГА УСПЕВАЕМОСТИ СТУДЕНТА В 202\_ - 202\_ Г.

килз	№ группы	ФИО	
	1 12 1 P., 1111D1	<b>- 11</b>	

морфология микробов					
Сведения об отработках:					
	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись	преподавателя	
Зачет:					
ФИЗИОЛ	огия и генетик	А МИКРОБОВ. О	БЩАЯ ВИР	усология	
Сведения об отработках:					
	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись преподавателя		
Зачет:					
УЧЕНИЕ	об инфекции. и	иммунология.	медицин	ІСКИЕ ИБП	
Сведения об отработках:					
	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись преподавателя		
Зачет:					
	Тем	<b>т</b> а	Дата	Подпись преподавателя	
Доп. баллы				проподивителя	
	Дата сдачи	<b>Цата сдачи</b> Кол-во баллов		Подпись преподавателя	
Итог за 1 семестр					

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ; БАКТЕРИИ - ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ						
Сведения об отработках:						
Зачет:	Дата сдачи Кол-во балло		Подпись преподавателя			
Su lei.						
ПАТОГЕННЬ	<b>ІЕ КОККИ; ВОЗБУ</b> Д	<b>ДИТЕЛИ АНАЭРО</b>	овных инф	ФЕКЦИЙ; ИСМП		
Сведения об отработках:						
Зачет:	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись преподавателя			
зачет:						
ПАТО	ОГЕННЫЕ СПИРОХ ПАТО	ХЕТЫ, ХЛАМИДИ ОГЕННЫЕ ГРИБІ		лазмы;		
Сведения об						
отработках:						
n	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись преподавателя			
Зачет:						
	ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ					
Сведения об отработках:						
5	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись преподавателя			
Зачет:						
	Тем	a	Дата	Подпись преподавателя		
Доп. баллы						
Итог за 2	Дата сдачи	Кол-во баллов	Подпись	преподавателя		
семестр						
		ЭКЗАМЕН				
Сумма баллов за год	Дата	Оценка	Подпись экзаменатора			

#### ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Работа в микробиологической лаборатории проводится с заразным материалом, что требует особой дисциплинированности и тщательности в работе. Поэтому студенты обязаны ознакомиться с правилами техники безопасности и строго их соблюдать:

#### НЕОБХОДИМО:

- верхнюю одежду оставлять в гардеробе; в лаборатории находиться в медицинских халатах и медицинских шапочках; при желании вы можете носить маску и перчатки;
- содержать лаборатории в чистоте и порядке; столы свободными от материалов, не относящихся непосредственно к работе;
- материал для работы принимается дежурным по группе у лаборанта кафедры и раздаётся студентам только с разрешения преподавателя;
- каждый вид деятельности осуществляется в определенной зоне: работа с микроорганизмами на специально оборудованном лабораторном столе, заполнение протоколов на рабочем столе;
- при попадании исследуемого материала на стол, пол и другие предметы немедленно сообщить преподавателю и произвести дезинфекцию;
- инфицированные материалы должны быть помещены в прочные непромокаемые контейнеры или контейнеры с дезинфицирующим раствором;
- во время проведения работы двери и окна лаборатории должны держаться закрытыми.

#### ЗАПРЕЩАЕТСЯ:

- принимать пищу в лаборатории;
- касаться руками исследуемого материала;
- зажигать одну спиртовку от другой; передавать, переносить или двигать по столу зажженную спиртовую горелку; оставлять спиртовку горящей после окончания использования по назначению;
- оставлять на рабочем месте нефиксированные препараты, открытые чашки Петри с посевами и другую посуду с инфекционным материалом.

#### ПО ОКОНЧАНИИ ПРАКТИЧЕСКОГО ЗАНЯТИЯ СТУДЕНТЫ ОБЯЗАНЫ:

- привести в порядок своё рабочее место;
- сдать дежурному материалы, привести в порядок содержимое лотка с материалами к занятию;
- протереть салфеткой со спиртом объектив микроскопа от иммерсионного масла и сдать микроскоп дежурному;
- вымыть руки с мылом, а при необходимости обработать антисептиком;
- подписать у преподавателя рабочую тетрадь с оформленной работой.

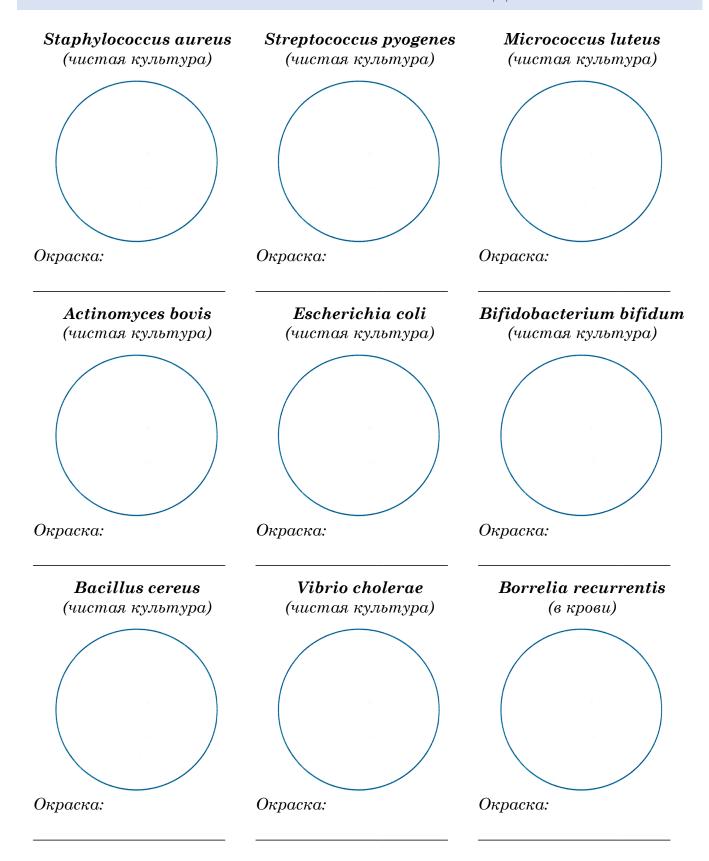
С правилами работы ознакомлен(а). Обязуюсь выполнять.

Дата	Подпись студента

# КУРС «ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»

# РАЗДЕЛ: «МОРФОЛОГИЯ МИКРОБОВ»

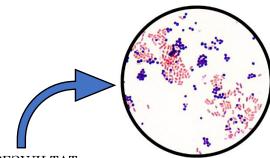
МОРФОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ. ПРОСТЫЕ МЕТОДЫ ОКРАСКИ



# МОРФОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ. СЛОЖНЫЕ МЕТОДЫ ОКРАСКИ

#### Окраска по Граму (для дифференцировки клеточной стенки)

- 1. На фиксированный мазок положить сухую полоску фильтровальной бумаги, ранее пропитанной анилиновым красителем генциан-фиолетовым (по Синеву), нанести на нее 2-3 капли воды и выдержать 2 минуты.
- 2. Снять бумажку пинцетом и, не промывая водой, нанести на мазок раствор Люголя (содержит йод) на 1 минуту. Мазок при этом чернеет.
- 3. Слить раствор Люголя и обесцвечивать 95% этиловым спиртом, погружая стекло в стаканчик со спиртом в течение 30-40 секунд до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя.
- 4. Тщательно промыть мазок водой для удаления спирта.
- 5. Для окраски грамотрицательных бактерий нанести на мазок водный фуксин на **1-2 минуты**.
- 6. Слить краску, промыть мазок водой и высушить фильтровальной бумагой.



РЕЗУЛЬТАТ:

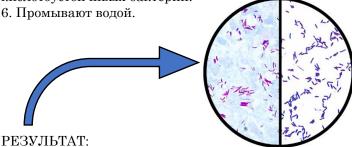
грамположительные бактерии окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные - в красный.

#### Окраска по Цилю-Нильсену (для определения кислотоустойчивости)

- 1. На фиксированный мазок кладут кусочек фильтровальной бумаги (по размеру мазка), наливают карболовый фуксин Циля и, держа стекло пинцетом, подогревают над пламенем спиртовки (но не в пламени!) до появления паров. При подсыхании красителя вследствие его испарения осторожно доливают карболовый фуксин на полоску фильтровальной бумаги. Так повторяют 2-3 раза, каждый раз отставляя стекло в сторону для охлаждения (наблюдать за появлением паров лучше, глядя на мазок сбоку).
- 2. Снимают бумажку пинцетом. Дают препарату остыть и промывают водой.

Внимание! Горячее предметное стекло не промывают водой, т.к. оно может разбиться.

- 3. Обесцвечивают мазок 5% серной кислотой, погружая в стаканчик с кислотой 3-5 раз, не задерживая в кислоте. Обесцвечивание кислотой должно быть полное, т.е. мазок становится бесцветным, почти таким, каким был до окрашивания карболовым фуксином.
- 4. Мазок тщательно промывают водой, чтобы прекратилось обесцвечивание.
- 5. Окрашивают препарат метиленовым синим 5 -7 минут. Мазок становится интенсивно голубым. При микроскопии голубой фон облегчает обнаружение кислотоустойчивых бактерий.



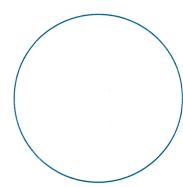
кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в красный цвет, некислотоустойчивые - в синий.

#### S. aureus u E. coli



#### B. cereus u E. coli





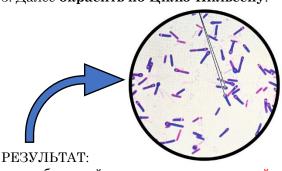
Mycobacterium tuberculosis

(в срезе легкого)

Окраска:

#### Окраска по методу Ауески (для выявления спор бактерий)

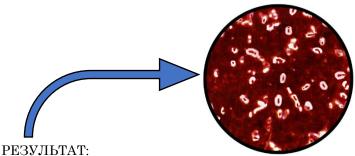
- 1. На нефиксированный мазок нанести 0,5% раствор соляной кислоты и подогреть над пламенем 2-3 минуты.
- 2. Кислоту слить, препарат промыть водой, просушить и фиксировать в пламени спиртовки.
- 3. Далее окрасить по Цилю-Нильсену.



споры бактерий окрашиваются в красный цвет, вегетативные клетки – в синий.

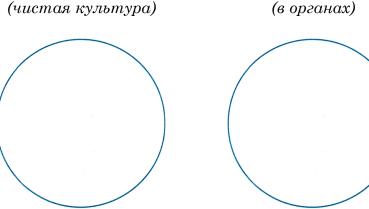
#### Окраска по Бурри-Гинсу (для выявления капсул бактерий)

- 1. Смешать каплю взвеси чистой культуры бактерий с каплей туши и при помощи другого предметного стекла сделать мазок, высушить и фиксировать над племенем.
- 2. Нанести карболовый раствор фуксина (1:3) на 1-2 минуты.
- 3. Промыть водой, высушить, микроскопировать.

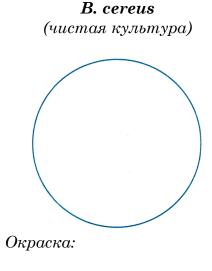


бактерии окрашиваются в красный цвет, фон – в темный, а клетки бактерий окружены бесцветным «ореолом» капсулой.

# Klebsiella pneumoniae Streptococcus pneumoniae (чистая культура)

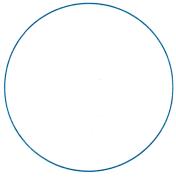


Окраска:



# Corynebacteriumdiphtheriae

(чистая культура)

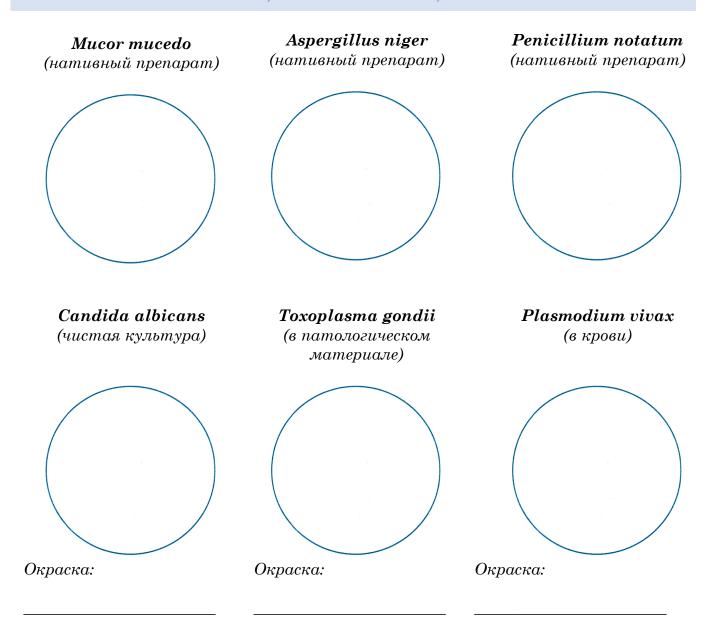


Окраска:

Окраска:

(Подпись преподавателя)

# МОРФОЛОГИЯ ГРИБОВ, ПРОСТЕЙШИХ, ВИРУСОВ

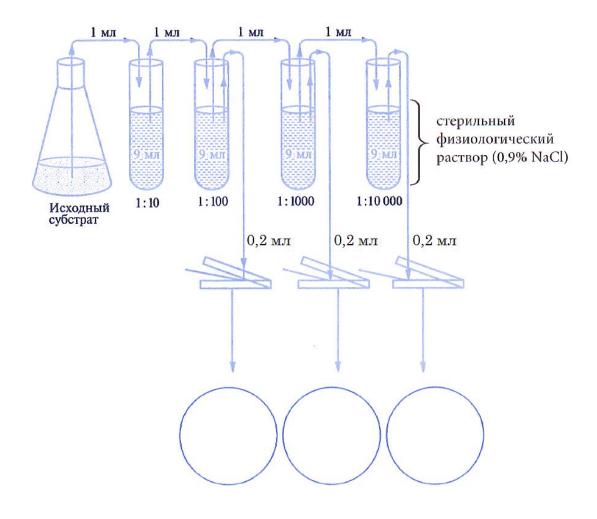


Примечание: нативный препарат – неокрашенный препарат (om англ. «native» - родной)

# РАЗДЕЛ: «ФИЗИОЛОГИЯ МИКРОБОВ»

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ (НАЧАЛО). ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ. ДЕЗИНФЕКЦИЯ. АНТИСЕПТИКА

ПОДСЧЕТ КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ В ИССЛЕДУЕМОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ ПО КОХУ



Разведение	Количество колоний на чашке
10·	
10·	
10·	
Расчет:	
Вывод:	
Количество микроорга	низмов в исследуемом материале:
x =KOE/m	л

МЕТОД ФОРТНЕРА (СДЕЛАЙТЕ ВЫВОД):
· <del></del>

## ДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СПОРООБРАЗУЮЩИЕ И НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

	КИПЯЧЕНИЕ 5 МИН (100°C)	АВТОКЛАВИРОВАНИЕ (120°С 15 МИН)
Bacillus cereus		
Escherichia coli		
Вывод:		

# ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ДЕЗИНФЕКЦИИ/АНТИСЕПТИКЕ:

	СПИРТ ЭТИЛОВЫЙ 700	АВАНСЕПТ	10% ХЛОРАМИН
Поверхность стола			
Руки			
Вывод:			

# ДЕЙСТВИЕ АНТИСЕПТИКОВ НА БАКТЕРИИ

АНТИСЕПТИК	хлоргексидин	ПЕРЕКИСЬ ВОДОРОДА 3%	
Staphylococcus aureus			
Escherichia coli			
Вывод:			

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ

# ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ (бактериологический метод исследования).

<u>1 ЭТАП:</u> Посев исследуемого материала на чашки Петри с плотной питательной средой (МПА) методом штриха.

**Инкубация** при 37°C в течение 24 часов.

<u>Примечание 1:</u> в том случае, если в исследуемом материале содержится незначительное количество возбудителя (например, в крови), то его предварительно накапливают путем посева материала в среду обогащения, а затем после инкубации (как правило, при  $37^{\circ}$ C в течение 18-24 часов) производят пересев на плотную среду.

<u>Примечание 2:</u> выделение и идентификация чистой культуры анаэробов производится в анаэробных условиях.

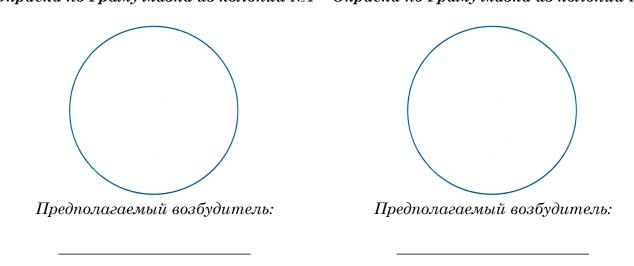
- <u>2 ЭТАП:</u> Идентификация выделенной чистой культуры (чистых культур) по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам. Для этого проводят:
- а) макро- и микроскопическое исследование колоний, выросших на плотной питательной среде (культуральные свойства);
- б) приготовление мазка из половины колонии каждого вида и окраску препарата по Граму (морфологические и тинкториальные свойства);

в) пересев оставшейся части колонии на скошенный агар для накопления выделенной чистой культуры. **Инкубация** при  $37^{0}$ С в течение 24 часов.

#### СХЕМА ОПИСАНИЯ КОЛОНИЙ

Nº	Рисунок	Размер	Форма	Цвет	Поверхность	Края	Консистенция	Структура
1								
2								

Окраска по Граму мазка из колонии №1 Окраска по Граму мазка из колонии №2



#### 3 ЭТАП:

А. Идентификация выделенной чистой культуры бактерий по биохимическим, антигенным и др. свойствам.

Для этого производят следующие исследования:

- а) изучение однородности роста на скошенном МПА;
- б) приготовление, окраска мазка по Граму (или фуксином) и микроскопия для проверки чистоты выделенной на скошенном МПА культуры;
- в) изучение **биохимической активности** бактерий: посев выделенной чистой культуры на **среды Гисса** (для определения сахаролитической активности), желатин и МПБ с индикаторными бумажками **на индол, аммиак и сероводород** (для выявления протеолитической активности).

**Инкубация** при 37<sup>о</sup>С в течение 24 часов.

<u>Примечание 1:</u> изучение биохимических свойств проводят только при работе с чистой культурой бактерий. При этом определяют свойства каждого выделенного микроорганизма в отдельности. Если при микроскопии мазка из материала со скошенного МПА обнаруживается смесь бактерий, то процедуру выделения чистой культуры бактерий необходимо повторить.

<u>Примечание 2:</u> для адекватной оценки биохимической активности бактерий необходимо исследовать не менее 15-20 тестов!

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ

Предполагаемый	САХАРОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА						ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	
возбудитель	Лактоза	Глюкоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Индол	Сероводород	

- г) изучение **антигенных свойств** выделенных бактерий (будет проводиться в разделе: "ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ").
- **Б. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам** методом дисков. **Инкубация** при 37°C в течение 24ч.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ МЕТОДОМ ДИСКОВ

ſ	Вид	Антибиотик, диаметр зоны задержки роста, мм					
	бактерий						
ŀ							

В. Внутривидовая идентификация выделенной чистой культуры бактерий (эпидемиологическое маркирование).

Проводится часто с целью определения источника инфекции. С этой целью применяют фаготипирование, рестрикционный анализ, определение плазмидного профиля бактерий и др.

4	ЭТ	AΤ	[· ]	<b>У</b> иет	nesv	пьтя	атов

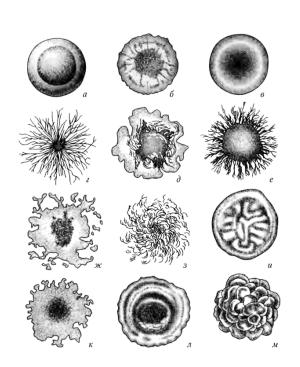
ных из исследуемого материала, можно сделать
и виду
чувствительны к
и́чивы к
чувствительны к
йчивы к

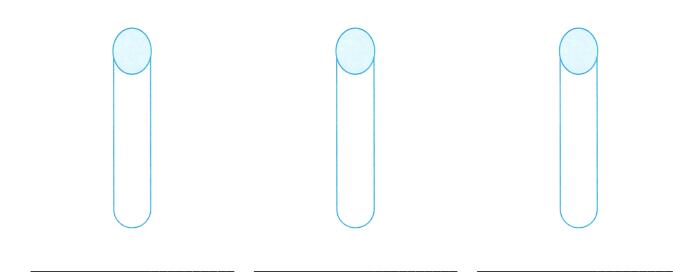
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПО КУЛЬТУРАЛЬНЫМ, МОРФОЛОГИЧЕСКИМ И ТИНКТОРИАЛЬНЫМ СВОЙСТВАМ. МИКРОБИОТА ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ И ВОЗДУХА



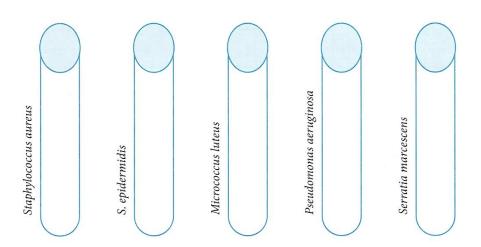
#### ФОРМЫ КОЛОНИЙ:

- a круглая;
- **б** круглая с фестончатым краем;
- **в** круглая с валиком по краю;
- $\mathbf{z}$  и  $\mathbf{\partial}$  ризоидные;
- e с ризоидным краем;
- **ж** амебовидная;
- **3** нитевидная;
- u складчатая;
- $\kappa$  неправильная;
- n концентрическая;
- M сложная

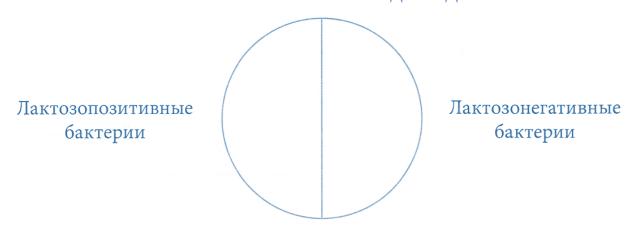




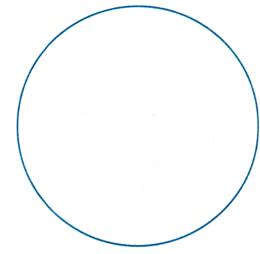
## пигменты бактерий



# РОСТ БАКТЕРИЙ НА СРЕДЕ ЭНДО



#### В мазке обнаружены:



#### Окраска:

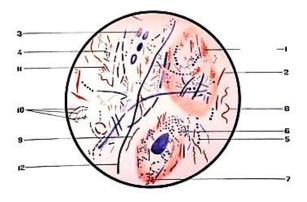
1.	
2.	
3.	
4	
4.	

6. \_\_\_\_\_

5. \_\_\_\_\_

- 7. \_\_\_\_\_
- 8. \_\_\_\_\_
- 9. \_\_\_\_\_
- 10. \_\_\_\_\_
- 11. \_\_\_\_\_
- 12. \_\_\_\_\_

# В мазке могу быть обнаружены:



- 1. Вейлонеллы
- 2. Фузиформные бактерии
- 3. Кандиды
- 4. Микрококки
- 5. Стрептококки
- 6. Стафилококки
- 7. Вибрионы
- 8. Спириллы
- 9. Спирохеты
- 10. Лактобактерии
- 11. Бактероиды
- 12. Лептотрихии

#### СХЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОБНОГО ЧИСЛА ВОДЫ

1:10	1:100	1:1000
й воды	КОЕ/мл.	

#### СХЕМА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДУХА

Метод исследования	Место отбора проб	Время экспозиции	Объём исследуемой пробы воздуха	Описание колоний
Седиментационный (по Коху)		5 мин	10 л	
Посев на МПА		5 мин	10 л	
Аспирационный (аппарат Кротова или ПУ-2) Посев на МПА, кровяной агар		Устанавливается автоматически	100 л	

количество бактерий (определено методом Коха) - количество бактерий (определено аспирационным методом) - количество грибов (определено обоими методами) -

Заключение*: микробное число исследуемого воздуха _ количество	КОЕ/м³, где
бактерий КОЕ/м <sup>3</sup> ; количество грибов	_ КОЕ/м³

(Подпись преподавателя)

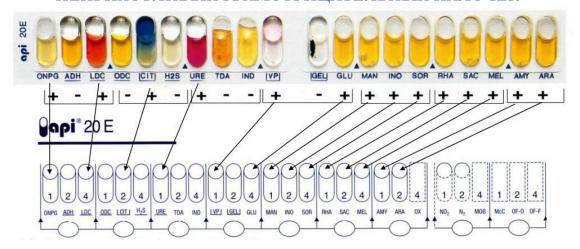
<sup>\*</sup>Допустимо: ОМЧ для бактерий менее 1500 КОЕ/м3, для грибов - не более 20 КОЕ/м3.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ (ОКОНЧАНИЕ). ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ СВОЙСТВАМ. ОПРЕДЕЛЕНИЧЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

## БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ

	CAXAP PO	ОЛИТИЧЕ СТ НА СРЕ	ССКИЕ СВО ЕДАХ ГИСС	ЙСТВА, А С:	ПРОТЕОЛИ СВОЙ	ТИЧЕСКИЕ ИСТВА
	глюкозой	лактозой	маннитом	сахарозой	индол	сероводород
Незасеянные пробирки						
Чистая культура 1						
Чистая культура 2						

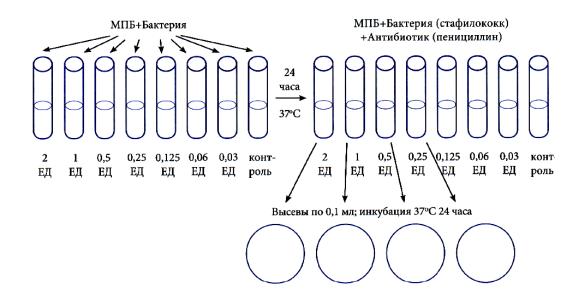
# АРІ 20 Е - НАБОР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ENTEROBACTERIACEAE И ДРУГИХ НЕПРИХОТЛИВЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАЛОЧЕК



# АРІ STAPH - НАБОР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СТАФИЛОКОККОВ, МИКРОКОККОВ И РОДСТВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ



## МЕТОД СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

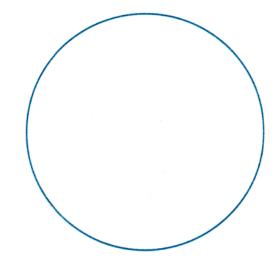


ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ МЕТОДОМ СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

Ингредиенты	1	2	3	4	5	6	7	8
Пперсоистион								контроль
МПБ, в мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Пенициллин, ЕД/мл	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
Стафилококк	по одной "петле"							
Результаты								
(рост/отсутствие роста):								
ЗАКЛЮЧЕНИЕ: минимальная ингибирующая концентрация (МИК) пенициллина ЕД/мл								

# ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ МЕТОДОМ ДИСКОВ

Нарисуйте результаты демонстрации по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом дисков:



# ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ МЕТОДОМ ДИСКОВ

	Д	Диаметр зоны задержки роста, мм					
АНТИБИОТИК	Staphyloco	ccus aureus	Escheric	chia coli			
	S	R	S	R			
Азитромицин	чувствительност эритрог	·	_	_			
Амоксициллин	_	_	чувствительность оценивается по ампициллину				
Ампициллин	_	_	≥ 14	< 14			
Бензилпенициллин	≥ 26*	< 26*	_	_			
Ванкомицин	используют дру определения чу		_	_			
Гентамицин	≥ 18	< 18	≥ 17	< 14			
Доксициклин	чувствительност тетраці		≥ 14	< 11			
Имипенем	чувствительность оценивается п		≥ 22	< 16			
Карбелициллин	_		≥ 19	< 15			
Левофлоксацин	≥ 22	< 22	≥ 23	< 19			
Меропенем	чувствительность оценивается п	=	≥ 22	< 16			
Оксациллин	_	_	_	_			
Рифампицин	≥ 26	< 23	_	_			
Тетрациклин	≥ 22	< 19	≥15	<12			
Хлорамфеникол (левомицетин)	≥ 18	< 18	≥ 17	< 17			
Цефалексин	чувствительност	ь оценивается по	≥ 14	< 14			
Цефтриаксон		ситину	≥ 25	< 22			
Цефокситин	≥ 22	< 22	≥ 19	< 19			
Ципрофлоксацин	≥ 21	< 21	≥ 26	< 24			
Эритромицин	≥ 21	< 18	_	_			

<sup>\*</sup> Большинство стафилококков продуцируют пенициллиназу, тест используется для определения ее наличия.

$\alpha$	/1 1	· \
5	suscentible	чувствительный)
$\sim$	(Select person)	1, BUIBILI CUBILDIII,

(Подпись преподавателя)

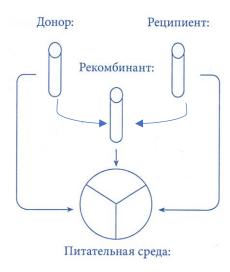
I (intermediate, мало устойчивый);

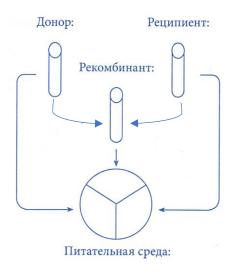
 $<sup>{</sup>f R}$  (resistant, устойчивый).

# ГЕНЕТИКА БАКТЕРИЙ. ФАГОТИПИРОВАНИЕ

## ОПЫТ ПО ТРАНСДУКЦИИ

## ОПЫТ ПО ТРАНСФОРМАЦИИ

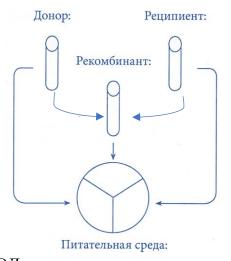


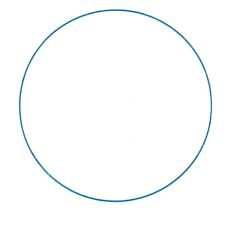


ВЫВОД:	ВЫВОД:

## ОПЫТ ПО КОНЪЮГАЦИИ

## ФАГОТИПИРОВАНИЕ СТАФИЛОКОККОВ



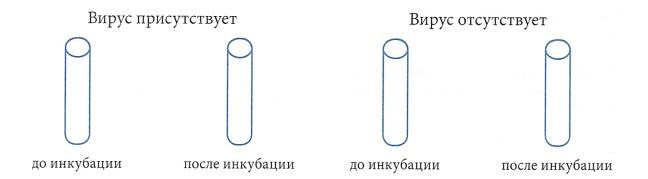


ВЫВОД:	ВЫВОД:

Культура клеток muna HeLa	куриных фибробластов
ЦПД вирусов: гибель и деструкция монослоя	ЦПД вирусов: цитоплазматические включения
ЦПД вирусов: внутриядерные включения	Тельца Бабеша-Негри в культуре клеток
Перечислите другие виды ЦПД:	

Культура клеток

## ЦВЕТНАЯ ПРОБА:



ФЕНОМЕН ГЕМАДСОРБЦИИ:	
Принцип метода:	
принцип метода.	
ОБРАЗОВАНИЕ БЛЯШЕК ПОД АГАРОМ:	
Принцип метода:	
	Assessed to the second
	Carried Annual Control of the Contro

# РЕАКЦИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РГА) ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВИРУСА В АЛЛАНТОИСНОЙ ЖИДКОСТИ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Ингредиенты	P	азведен	Контроль				
•	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	эритроцитов	
Изотонический р-р							
хлорида натрия, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Аллантоисная							
жидкость (вируссодержащий		1	1	1			
материал), мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить		
1% суспензия							
эритроцитов, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	$0,\!5$	0,5	
Перемешат	ь, инку	бировап	<i>в при к</i>	омнатн	юй темпераг	nype	
		в течен	ue 30- 60	Эмин.			
Результаты:							
ВЫВОДЫ: РГА поло	ВЫВОДЫ: РГА положительная/отрицательная.						
В алланто	В аллантоисной жидкости <b>обнаружен/не обнаружен</b> вирус,						
обладающий гемагглютинирующей способностью.							
Титр вируса							

# РАЗДЕЛ: «УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТЕ»

## ИНФЕКЦИЯ. ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

Streptococcus pneumoniae (в органах)	Фагоцитоз Staphylococcus aureus	Neisseria gonorrhoeae в гное (незавершенный фагоцитоз		
Окраска:	Окраска:	Окраска:		
Плазмокоагулаза	Рост на 5% кровяном агаре	Рост на ЖСА (лецитовителлаза)		
α -гемолиз –				
β -гемолиз –				
ү- гемолиз –				

# МЕХАНИЗМЫ И ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

			*		
заражения	7 <b>-</b>	пути передачи инфекции	Факторы передачи инфекции	рходные ворота инфекции	т рушна инфекционных заболеваний
		Пищевой (алиментарный)	Контаминированные пищевые продукты		
Фекально-оральный	ьный	Водный	Инфицированная вода	Рот, желудочно-	Кишечные инфекции
		Контактно-бытовой	Грязные руки, контаминированная посуда, насекомые-переносчики (мухи, тараканы)	лишечный гракт	
	:	<b>Воздушно-капельный</b> (диаметр частиц от 10 до 100 мкм)	Капли слизи из зева при кашле, чихании, разговоре, шепоте, дыхании, пении, поцелуе	Спизистые обопочки	Респираторные инфекции
Аэрогенный	Z	Воздушно-пылевой	Частицы пыли, несущие на себе микробы	дыхательных путей	(инфекции дыхательных
		<i>Аэрозольный</i> (диаметр частиц до 10 мкм)	Пылевой или водный аэрозоль		путеи)
	йог	Трансфузионный	Переливание зараженной крови, плазмы		
	vrq	Трансплацентарный*	Через плаценту от матери к плоду		
	ĮΠ	Половой	При микроповреждениях с выделением крови		
Кровяной 5.2	ЙC	Трансмиссивный	Через укусы кровососущих насекомых	Кровь	Кровяные инфекции
	омвадпэН	Артифициальный	Через нестерильные медицинские инструменты (иглы, шприцы и пр.) и средства личной гигиены (зубная щетка, "опасная" бритва) с остатками крови на них		
	йомво	Контактный раневой	Укус животного, травма, все виды оружия, контаминированные медицинская аппаратура, шовный и перевязочный материал	Кожа, слизистые	Контактные (раневые) инфекции
L'ours ourse s'	<u>І</u> Ш	Половой	Половой контакт	оболочки мочевыделительной и	Сексуально-трансмиссивные инфекции
	йомкфпэН	Контактно-бытовой	Контаминированные руки (при рукопожатии, дотрагивании и т.п.), поцелуй, контаминированные предметы (посуда, мочалка, предметы личной гигиены)	половой систем, конъюнктива глаз, волосы, ногти	Контактные инфекции
		Трансплацентарный	Через плаценту от матери к плоду (антенатальное инфицирование)	Кровь	Кровяные («врожденные») инфекции
Вертикальный		Контактный	При прохождении через инфицированные родовые пути матери, грудное вскармливание (интранатальное и постнатальное инфицирование)	Рот, ЖКТ, кожа и слизистые новорожденного	Контактные инфекции
*См. также «ве	ертик	*См. также «вертикальный механизм заражения»	<i>гражения</i> »		

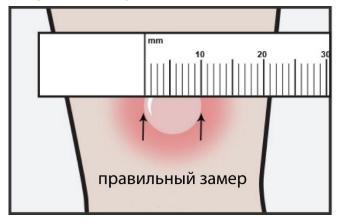
# 27

#### ОСНОВЫ АЛЛЕРГОЛОГИИ

#### НАКОЖНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕАКЦИИ НА АЛЛЕРГЕНЫ



#### ПРОБА МАНТУ





ЗАКЛЮЧЕНИЕ: _	 	

(Подпись преподавателя)

#### ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

#### МИБП ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

#### ДИАГНОСТИКУМЫ (АГ):

#### I. <u>Бактериальные</u>

Пример: Бактериальный диагностикум сальмонелл брюшного тифа.

#### II. <u>Эритроцитарный</u>

**Пример:** Эритроцитарный Vi-диагностикум.

#### III. Вирусный

Пример: Диагностикум гриппозный сухой.

#### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АТ-ПРЕПАРАТЫ:

#### І. Диагностические иммунные сыворотки

Агглютинирующие адсорбированные и неадсорбированные; Преципитирующие; Гемолитические и др.

**Пример:** Адсорбированная поливалентная агглютинирующая сальмонеллезная сыворотка групп АВСДЕ.

#### II. <u>Эритроцитарные АТ-диагностикумы</u>

**Примеры:** Дизентерийные эритроцитарные диагностикумы; Эритроцитарный брюшнотифозный диагностикум.

#### III. Моноклональные AT

#### IV. <u>AT, меченые флюорохромами, ферментами, изотопами</u>

**Примеры:** Антитела, меченные флуоресцеином изотиоцианатом (ФИТЦ), или другим флюорохромом для прямого метода Кунса (РИФ); Препараты пероксидазных конъюгатов антител для выявления антигенов стафилококков, пневмококков, возбудителей чумы, туберкулеза, легионеллеза, гриппа, парагриппа, аденовирусной инфекции и др.; Сыворотки меченые радиоизотопами для постановки РИА.

#### V. Антиглобулиновые сыворотки

Пример: Антиглобулиновая сыворотка для реакции Кумбса.

# ДРУГИЕ КОМПОНЕНТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ:

- І. Комплемент
- II. Эритроциты
- III. Гемолитическая система и др.

#### БАКТЕРИОФАГИ

**Примеры:** Стафилококковые типовые, Брюшнотифозные типовые, Холерные типовые:

#### АЛЛЕРГЕНЫ

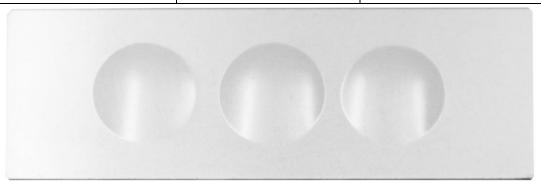
Примеры: Туберкулин, Бруцеллин, Тулярин, Антраксин.

#### РАЗВЕРНУТАЯ РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ С СЫВОРОТКОЙ БОЛЬНОГО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИТРА АНТИТЕЛ

		Пробирки							
Ингредиенты	$oxed{1}$ $oxed{2}$ $oxed{3}$		4 5		Контроль	Контроль			
	1	2	3	4	Э	сыворотки	антигена		
Изотонический р-р, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	_	1,0		
Сыворотка больного в									
исходном разведении						1,0	_		
1:25, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 слить				
Разведения	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:25			
сыворотки	1.50	1:100	1:200	1.400	1:000	1.20			
Первый ряд пробирок:									
О-диагностикум	3	3	3	3	3		3		
(в каплях)									
Второй ряд пробирок:									
Н-диагностикум	3	3	3	3	3		3		
(в каплях)									
Термостат при 37°C в течение 2 ч., затем при комнатной температуре 24 ч.									
Результат:									
О-агглютинация									
Результат:									
Н-агглютинация						_			
ВЫВОДЫ: Реакция агт	лютина	ации по	ложите	льная/о	трицательная	Ι.			
Титр антите	л к О-ан	нтигену		Тит	гр антител к Н	І-антигену			

### РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ НА СТЕКЛЕ С АДСОРБИРОВАННЫМИ СЫВОРОТКАМИ

Сыворотка 1	Сыворотка 2	Контроль:
		ЧИСТАЯ КУЛЬТУРА
+	+	+
ЧИСТАЯ КУЛЬТУРА	ЧИСТАЯ КУЛЬТУРА	физ. р-р



ВЫВОД: _			
, ,			

РЕАКЦИЯ ПАССИВНОЙ (НЕПРЯМОЙ) ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

	Пробирки										
Ингредиенты	1	2	3	4	5	Контроль	Контроль				
	1		3	4	9	сыворотки	антигена				
Изотонический р-р, мл	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25				
Сыворотка больного в											
исходном разведении						0,25					
1:25, мл	$0,\!\overline{2}5$	$0,\!25$	$0,\!25$	$0,\!25$	0,25 слить						
Разведения	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:10					
сыворотки	1:10	1:20	1.40	1.00	1:100	1.10	<del></del>				
Эритроцитарный	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		0,25				
диагностикум, мл	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	_	0,20				
Инкубация при	комно	атной	темпе	pamyp	е в течение 🤅	30-60 мину	rm				
Результат (рисунок):											
Результат (+/-)											
ВЫВОДЫ: Реакция пас	сивной	гемагг	лютина	ции пол	пожительная/	отрицатель	ная.				
Титр антите	л в иссл	іедуемо	й сывор	отке пр	отив данного	антигена _	•				

#### РЕАКЦИЯ КОЛЬЦЕПРЕЦИПИТАЦИИ С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ГАПТЕНОМ

Ингредиенты	Неизвестный гаптен
Преципитирующая сыворотка против <i>B.cereus</i>	
Преципитирующая сыворотка против <i>E.coli</i>	
ВЫВОД: Неизвестный гаптен выделен из	

#### РЕАКЦИЯ КОЛЬЦЕПРЕЦИПИТАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕИЗВЕСТНОГО БЕЛКА

Ингредиенты	Неизвестный белок
Преципитирующая сыворотка против белка	
человека	
Преципитирующая сыворотка против белка	
курицы	
ВЫВОД: Неизвестный белок принадлежит	

#### РЕАКЦИЯ ИММУННОГО ГЕМОЛИЗА

			Конт	роль				
Ингредиенты	Опыт 1	2	3	4	5			
Гемолитическая сыворотка кролика,								
содержащая антитела к эритроцитам	0,5	0,5		0,5				
барана, мл								
Эритроциты барана, мл	0,5	0,5	0,5		0,5			
Комплемент в разведении 1:10, мл	0,5		0,5	0,5				
Эритроциты собаки, мл	_	_		0,5				
Физиологический раствор, мл	_	0,5	0,5		1,0			
Общий объём, мл	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5			
Инкубация при 37°C в течение 45-60 минут								
Результат								
(гемолиз / отсутствие гемолиза):								
ВЫВОДЫ: Реакция иммунного гемол	иза полож	кительна	ая/отриц	ательная	я, т.к.			

#### РЕАКШИЯ ТИТРОВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

					Пр	обир	ки		
Ингредиенты					_		_	Контроль компл.	Контроль гем. сист.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Комплемент									
разведения 1:10,	0.9	0.05	0.9	0.25	0.4	0.45	0 5	0.5	_
мл	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,5	
Изотоническая	1.0	1.05	1.0	1 1 1	1 1	1.05	1.0	1 =	1 5
раствор, мл	1,3	1,25	1,2	1,15	1,1	1,05	1,0	1,5	1,5
Гемолитическая	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1 0	0.5	1.0
система, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0
	Инк	убаци	я при	37°C	в теч	ение 5	80 мин	нут	
Результат									
(гемолиз +/- ):									
ВЫВОДЫ: титр н	компле	емента	L	;	рабоча	ая доза	а комп	лемента	МЛ.

# РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА С ИССЛЕДУЕМОЙ СЫВОРОТКОЙ

Ингј	редиенты	Опыт 1	Контроль сыворотки 2	Контроль антигена 3		
Исследуемая сыворо	гка в разведении 1:25, мл	0,5	0,5	_		
Антиген (диагностик	ум), мл	0,5	_	0,5		
Комплемент в рабоче	ей дозе, мл	0,5	0,5	0,5		
Изотонический растн	вор, мл	_	0,5	0,5		
Ин	икубация при 37°С в тече	ение 45-6	0 минут			
Гемолитическая сист	Гемолитическая система, мл 1,0 1,0					
Ин	Инкубация при 37°С в течение 45-60 минут					
Результат	Сыворотка больного					
(гемолиз +/- ):	Сыворотка здорового					
	отрицательная <b>с сыворот</b> Отрицательная <b>с сыворот</b>			·		

#### Условные обозначения:

«+» – наличие гемолиза (РСК «-»), «-» – отсутствие гемолиза (РСК «+»)

#### СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

17	Опыт «Положительный контроль»							«Отриц. контроль»	
Ингредиенты	A1	B1	C1	D1	<b>E</b> 1	F1	G1	H1	
	<b>A2</b>	<b>B2</b>	C2	<b>D2</b>	<b>E2</b>	F2	<b>G2</b>	H2	
1. Буфер А (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Инкубация при комнатной температуре 10 мин.									
2. Исследуемый антиген (мл)	0,1*						_		
3. Стандартный антиген 100 мкг/мл (мл)	_	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 слить	_	
4. Отрицательный контроль (мл)	_							0,1	
	бация п	pu 37	Свт	ечени	е 20 л	ин., с	тмывка		
		•	_	_			слить 0,1 л		
(во всех лун								-	
5. Конъюгат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Инкубация при 37°C в течение 20 мин., отмывка									
6. Субстрат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Инкуб	бация пр	ри кол	инат	ной т	емпер	ратур	е 20 мин.		
7. «Стоп-реагент» (50%H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) (мл)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12  A									
Фотометр вертикального сканирования измеряет оптическую плотность содержимого лунок планшета.									
Результаты (+/—):									
ВЫВОДЫ: ИФА положительная/отрицательная									
Концентрация исследуемого антигена мкг/мл									

(Подпись преподавателя)

# мибп для профилактики и лечения

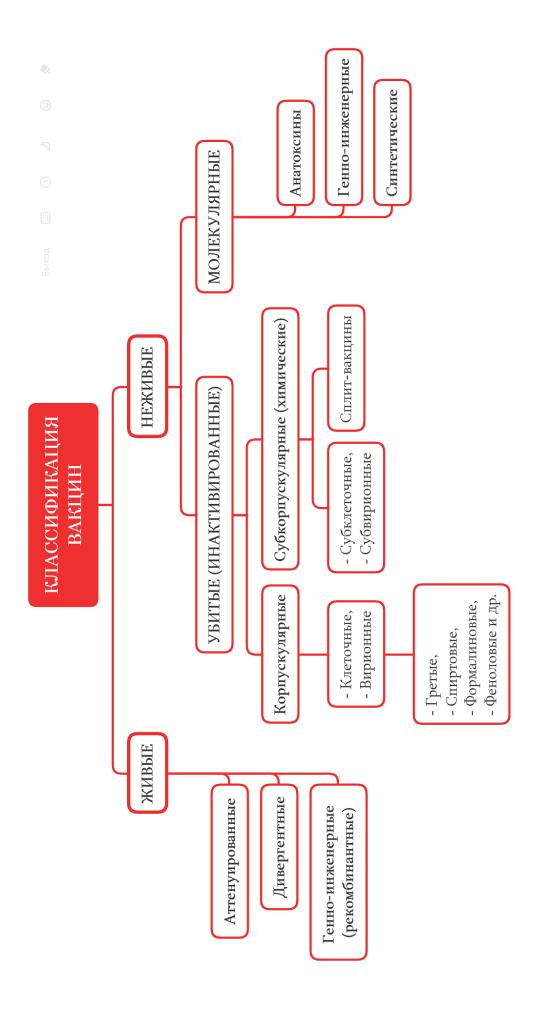
#### СХЕМА РЕАКЦИИ ФЛОККУЛЯЦИИ ДЛЯ ТИТРОВАНИЯ АНАТОКСИНА

Ингредиенты	1	2	3	4	5			
Дифтерийный анатоксин, мл	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0			
Противодифтерийная антитоксическая сыворотка, мл (400 МЕ/мл)	0,16	0,18	0,2	0,22	0,24			
Водяная баня 40-45°С в течение 45 минут								
Результаты (инициальная флоккуляция):  Расчёт:								
ВЫВОДЫ: Реакция флоккуляции положительная/отрицательная (нужное подчеркнуть). Титр дифтерийного анатоксинаLf/мл.								

# СХЕМА КОНТРОЛЯ ДИФТЕРИЙНОГО АНАТОКСИНА

Название анатоксина	Тип вакцины	Внешний вид (цвет, прозрачность)	Стерильность	Титр (из таблицы выше)					
ВЫВОД:									
Дифтерийный анатоксин соответствует / не соответствует стандарту (нужное									
подчеркнуть) по показателям									

(Подпись	преподавателя)



#### ВАКЦИНЫ

#### Живые

#### I. <u>Живые дивергентные</u>

Пример: Вакцина оспенная живая.

#### II. <u>Живые аттенуированные</u>

**Примеры:** БЦЖ, БЦЖ-м; Вакцина бруцеллёзная живая; Сибиреязвенная вакцина живая; Вакцина чумная живая; Туляремийная вакцина живая; Вакцина желтой лихорадки живая сухая; Вакцина живая Ку-лихорадки; Полиомиелитная пероральная живая вакцина (ОПВ); Вакцина против краснухи культуральная живая; Живая коревая вакцина; Вакцина против ветряной оспы живая аттенуированная.

**Ассоциированная:** Вакцина с живым вакцинным штаммом – Вакцина Е сыпнотифозная комбинированная живая (ЖКСВ-Е).

#### III. <u>Рекомбинантные (векторные) вакцины</u>

**Пример:** Комбинированная векторная вакцина для профилактики новой коронавирусной инфекции.

#### Инактивированные

#### І. Корпускулярные:

• Цельноклеточные

**Пример:** Холерная инактивированная вакцина; лептоспирозная концентрированная инактивированная жидкая вакцина; полиомиелитная пероральная инактивированная вакцина (ИПВ).

• Цельновирионные

**Пример:** Вакцина антирабическая культуральная концентрированная очищенная инактивированная; Вакцина клещевого энцефалита; Герпетическая вакцина инактивированная.

#### II. <u>Химические</u>

• Субклеточные

**Примеры:** Вакцина брюшнотифозная Vi-полисахаридная; Вакцина пневмококковая полисахаридная конъюгированная адсорбированная; Вакцина менингококковая полисахаридная; Вакцина конъюгированная для профилактики инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae*.

• Субвирионные

Пример: Вакцина гриппозная полимер-субъединичная.

#### Молекулярные

#### I. <u>Биосинтетические природные</u> (анатоксины)

**Примеры:** АД-м, АС, АДС, АДС-м, Тетраанатоксин, Анатоксин стафилококковый очищенный адсорбированный.

Комбинированные (с анатоксином): АКДС.

Ассоциированные (с анатоксином): Вакцина холерная бивалентная химическая.

#### II. Генно-инженерные

Пример: Вакцина против ВГВ рекомбинантная дрожжевая жидкая.

#### III. Синтетические

**Пример:** Вакцина на основе пептидных АГ для профилактики COVID-19.

#### Противогриппозные:

- І поколение: Гриппозная вакцина живая аллантоисная для интраназального применения; убитая цельновирионная гриппозная вакцина.
- ІІ поколение: Вакцина полимер-субъединичная гриппозная.
- III поколение: Инактивированная сплит-вакцина гриппозная.
- **IV поколение:** Рекомбинантная противогриппозная вакцина (в РФ не используется).
- V поколение: Поливалентная виросомальная инактивированная вакцина против гриппа.

#### КОМБИНИРОВАННЫЕ

**Примеры:** Вакцина для профилактики дифтерии и столбняка адсорбированная, коклюша ацеллюлярная, полиомиелита инактивированная, инфекций, вызываемых *Haemophilus influenza* тип b, конъюгированная («Пентаксим»); Адсорбированная бесклеточная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина,

Адсороированная оесклеточная коклюшно-дифтериино-столонячная вакцина, инактивированная полиомиелитная вакцина, рекомбинантная вакцина против вируса гепатита В, вакцина для профилактики *Haemophilus influenzae* тип b («Инфанрикс»).

#### БАКТЕРИОФАГИ

**Примеры**: Поливалентный брюшнотифозный бактериофаг; Бактериофаг сальмонеллёзный групп A, B, C, D, E; Бактериофаг дизентерийный поливалентный.

#### **ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ**

Экзогенные – сочетают в себе свойства вакцинных и иммуномодулирующих средств.

Примеры: Рибомунил; ИРС-19; Бронхомунал.

#### Эндогенные

#### I. <u>Колониестимулирующие факторы</u>

Пример: Молграмостин.

#### II. Интерфероны

Пример: Интерферон Альфа-2b лейкоцитарный или рекомбинантный.

#### III. <u>Интерлейкины</u>

Пример: Интерлейкин-2.

#### IV. Другие системные иммуномодуляторы

• Препараты тимуса

Примеры: Тактивин; Тимопоэтин; Миелопид (В-активин).

#### ВАКЦИНЫ

#### Инактивированные

**Примеры:** Гонококковая инактивированная вакцина; Стафилококковая инактивированная вакцина лечебная; Бруцеллёзная лечебная вакцина жидкая.

#### ИМУННЫЕ СЫВОРОТОЧНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

#### I. <u>Гетерологические:</u>

• Иммуноглобулины и сыворотки:

А. Противобактериальные

Пример: Противочумная сыворотка.

**Б**. Противовирусные

Пример: Иммуноглобулин антирабический лошадиный.

В. Антитоксические

**Примеры**: Противогангренозная поливалентная; Противоботулиническая A, B, E; Противостолбнячная; Противодифтерийная.

#### II. Гомологические:

• Иммуноглобулины:

А. Ненаправленного действия:

Пример: Иммуноглобулин человека нормальный.

Б. Направленного действия

**Примеры:** Противостафилококковый иммуноглобулин; Противогриппозный иммуноглобулин; Иммуноглобулин против клещевого энцефалита.

• Сыворотки

**Примеры:** Сыворотка против клещевого энцефалита; Противогриппозная сыворотка;

• Гипериммунная плазма

**Примеры**: Противокоронавирусная плазма; Противогриппозная плазма; Антистафилококковая плазма; Антисинегнойная плазма.

#### БАКТЕРИОФАГИ

**Примеры:** Стафилококковый, Стрептококковый, Синегнойный, Клебсиеллёзный, Колибактериофаг, Протейный, Пиобактериофаг, Бактериофаг интести.

#### пробиотики

Примеры: Лактобактерин; Ацилакт; Бифидумбактерин; Колибактерин; Бификол.

# КУРС «ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»

# РАЗДЕЛ: «ЧАСТНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ»

# БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

КЛАССИФИКАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛ (СХЕМА КАУФМАНА-УАЙТА)

Concentrate concent next	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	Н-антиген		
Серогруппа, серовар, вид	О-антиген	Фаза 1	Фаза 2	
Серогруппа 2 (А)				
S. Paratyphi A	<u>1</u> , 2, 12	a	(1, 5)	
Серогруппа 4 (В)				
• S. Paratyphi B (S. Schottmuelleri)	<u>1,</u> 4(5), 12	b	1, 2	
• S. Derby	$\frac{1}{1}$ , $4(5)$ , $12$	f, g	1, 2	
• S. Agona	1, 4(5), 12	f, g, s	(1, 2)	
S. Typhimurium	<u>1</u> , 4(5), 12	i	1, 2	
Серогруппа 6,7 (С1)				
• S. Paratyphi C	6, 7, (Vi)	c	1, 5	
• S. Choleraesuis	6, 7	c	1, 5	
• S. Infantis	6, 7, <u>14</u>	r	1,5	
Серогруппа 9 (D1)				
S. Typhi	9, 12 (Vi)	d	_	
S. Enteritidis	1, 9, 12	g, m	_	
S. Dublin	<u>1,</u> 9, 12 (Vi)	g, p	_	
S. Moscow	9, 12	g, q	_	
S. Panama	<u>1,</u> 9, 12	l, v	1,5	
Серогруппа 3, 10 (Е1)				
S. London	3, 10 <b>(15)</b>	l, v	1, 6	

Антигены в скобках - антигены, которые редко экспрессируются данным сероваром.

# О-РПГА С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРЮШНОГО ТИФА

Результаты	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Контроль
Сыворотка 1								
Сыворотка 2								
ВЫВОДЫ: РПГА положительная /отрицательная.								
Титр антител к О-антигену в первой сыворотке								
Титр антител к О-антигену во второй сыворотке								
к	ратное	увелич	чение	титра	антител	I ВО	второй	сыворотке
подтверждает/не подтверждает диагноз								

# Vi-РПГА С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО БРЮШНОТИФОЗНОГО НОСИТЕЛЬСТВА

Результаты	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Контроль	
Сыворотка пациента									
ВЫВОДЫ: РПГА положительная /отрицательная.									
Титр антител к Vi-антигену									
HOHERONIA HOMENO HOMENO OF HIS BUILD									

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ БОЛЬНОГО ПРИ БРЮШНОМ ТИФЕ (ПАРАТИФАХ)

Материал для исследования – кровь больного.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – брюшной тиф (?).

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы			
1	Посев крови больного в соотношении 1:10 на 10% желчный бульон для накопления.				
2					
3					
4					
ЗАКЛЬ	ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ:				

# БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РВОТНЫХ МАСС БОЛЬНОГО ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ

Материал для исследования – рвотные массы больного.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – сальмонеллез (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		
ЗАКЛЬ	ОЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ:	

Окраска:	Окраска:
Окраска:	Окраска:

# БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕКАЛИЙ (КОПРОКУЛЬТУРЫ) БОЛЬНОГО ПРИ КОЛИЭНТЕРИТЕ

Материал для исследования - фекалии больного.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – колиэнтерит (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		
ЗАКЛЬ	ОЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ:	

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕКАЛИЙ (КОПРОКУЛЬТУРЫ) БОЛЬНОГО ПРИ ШИГЕЛЛЕЗЕ (БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДИЗЕНТЕРИИ)

Материал для исследования – фекалии больного.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

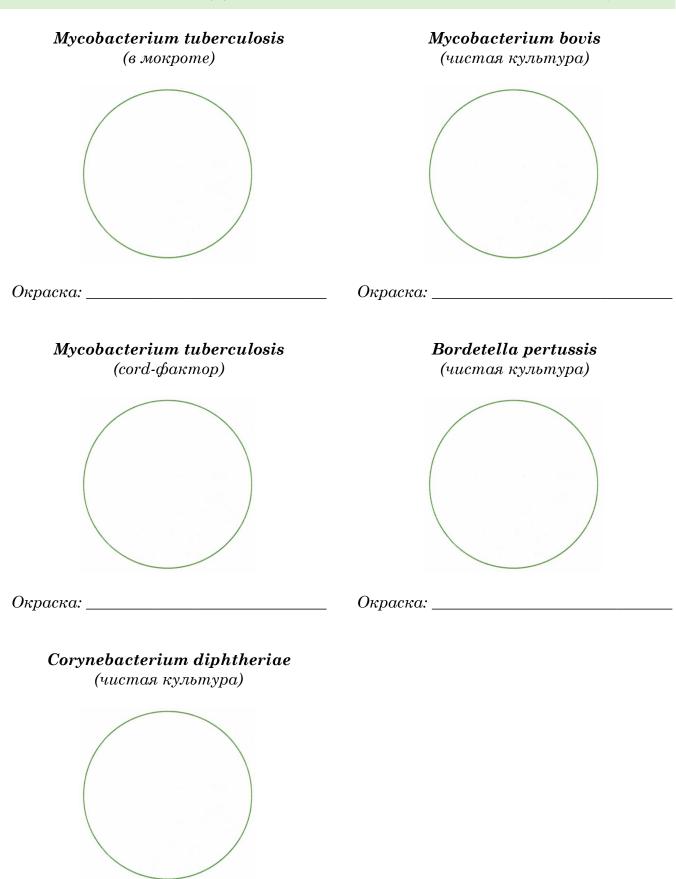
<u>Предварительный клинический диагноз</u> – дизентерия (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		
ЗАКЛЬ	ОЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ:	

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Название бактерий	КИЕ СВОИСТВА ЭНТЕ Среда Клиглера	Цитрат Симмонса	Среда с лизином
Незасеянные пробирки			
Salmonella sp.			
Shigella sp.			
Escherichia sp.			

## БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

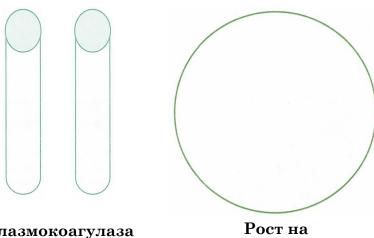


(Подпись преподавателя)

Окраска: \_\_\_\_\_

# ПАТОГЕННЫЕ КОККИ (СТАФИЛОКОККИ, СТРЕПТОКОККИ, НЕЙССЕРИИ)

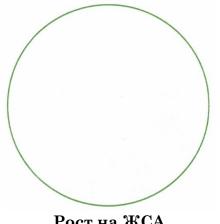
# $Streptococcus\ pneumoniae$ Streptococcus pyogenes $Staphylococcus\ aureus$ (в органах) (чистая культура) (в гное) Окраска: Окраска: Окраска: $Neisseria\ gonorrhoeae$ Neisseria meningitidis (в гное) (чистая культура) Окраска: \_ Окраска: \_\_\_\_\_ ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ



Плазмокоагулаза



5% кровяном агаре



Рост на ЖСА (лецитовителлаза)

### ИССЛЕДОВАНИЯ ГНОЯ

Материал для исследования – отделяемое по дренажу.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – послеоперационное нагноение.

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1	<ol> <li>Приготовление мазка из исследуемого материала и окраска по Граму (бактериоскопическое исследование).</li> <li>Посев исследуемого материала на желточно-солевой и 5% кровяной агар.</li> </ol>	
2	<ol> <li>Микроскопия колоний (окраска по Граму).</li> <li>Пересев на скошенный МПА для накопления чистой культуры.</li> </ol>	
3	1) Приготовление мазка и окраска фуксином (для определения степени чистоты выделенной культуры).  2) Посев на цитратную кроличью плазму и среду Гисса с маннитом (под вазелиновым маслом для создания анаэробных условий).  3) Фаготипирование культуры типовыми стафилококковыми бактериофагами  4) Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.	<ul> <li>Доксициклин мм</li> <li> мм</li> </ul>
ЗАКЛК	ОЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ:	

# РАЗДЕЛ: «КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОКРОТЫ

Материал для исследования – мокрота.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – пневмония (?).

День	Ход исследования				Результат исследования						
	1) Приготовление серийных р			разведений мокроты в стерильном физ. растворе:							
		Физ. р-р, мл	9,0		9,9	9,9	9,9				
		Материал, мл	1,0	_	0,1	→ 0,1 —	<b>→</b> 0,1				
1			10-1	0,1	мл 0,1	10-5	1 мл				
	мокрот на ЖО агар, и	ев газоном по ты из разведен СА и 5% кроз вазведения вяной агар.	ия 10 <sup>-5</sup> овяной								
2	(окрас	кроскопия коло ка по Граму). ресев на скош									
3	•	еление ительности баг биотикам	ктерий	• - • - • -							
ЗАКЛК	ОЧЕНИ	<b>IE:</b> Из мокроті	ы больн	ого ві	ыделены бакт	герии вида					
в кол	ичестве		КОЕ/м	IJ,	что подтв	ерждает/не	подтверж	дает			
этиолог	ическук	роль выделен	ных ба	ктери	ій в развитии	заболевания	ſ <b>.</b>				
Выделе	нные ба	ктерии чувств	ительнь	ык				,			
устойчи	вы к							·			

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЧИ

Материал для исследования – моча.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – острый пиелонефрит (?)

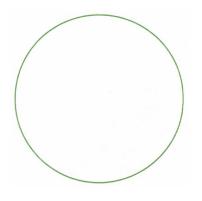
День	Ход исследования	Результат исследования
1	Посев мочи по Голду.	
2	<ol> <li>Микроскопия колоний (окраска по Граму).</li> <li>Пересев на скошенный МПА.</li> </ol>	
3	Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.	<ul> <li>- MM</li> </ul>
		елены бактерии.
		л, что <b>подтверждает/не подтверждает</b> рий в развитии заболевания. Выделенные
бактери		,
устойчи	вы к	

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ БАКТЕРИУРИИ

Количе	ство колоний	Среднее кол-во		
Сектор А	Сектор 1	Сектор 2	Сектор 3	бактерий, КОЕ/мл
				иРОМ
1-6				<1000
8-20				3 000
20-30				5 000
30-60	_		_	10 000
70-80	<del></del>	<del></del>	_	50 000
100-150	6-10			100 000
>200	20-30		_	500 000
>200	40-60			1 000 000 (106)
>200	100-140	10-20	_	5 000 000 (5x10 <sup>6</sup> )
>200	>200	30-40		10 000 000 (107)
>200	>200	60-80	1-8	более 100 000 000 (108)

## $Pseudomonas\ aeruginos a$

(чистая культура)



Окраска: \_\_\_\_\_

# СБОР, ХРАНЕНИЕ И ДОСТАВКА ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА АНАЭРОБНУЮ ИНФЕКЦИЮ

#### 1) Исследуемый материал:

- Исследуют перитонеальную и синовиальную жидкости, гной из абсцессов и закрытых полостей, материал из глубоких отделов свища, фрагменты костной и мышечной тканей и т.д.
- При наличии клинических признаков анаэробной инфекции **бактериологическое** исследование крови проводят обязательно!
- Не стоит исследовать на анаэробы: мокроту, полученную при откашливании или аспирации через назотрахеальный катетер, материал, полученный при бронхоскопии, мазки с поверхности ран, мочу, полученную при естественном мочеиспускании.

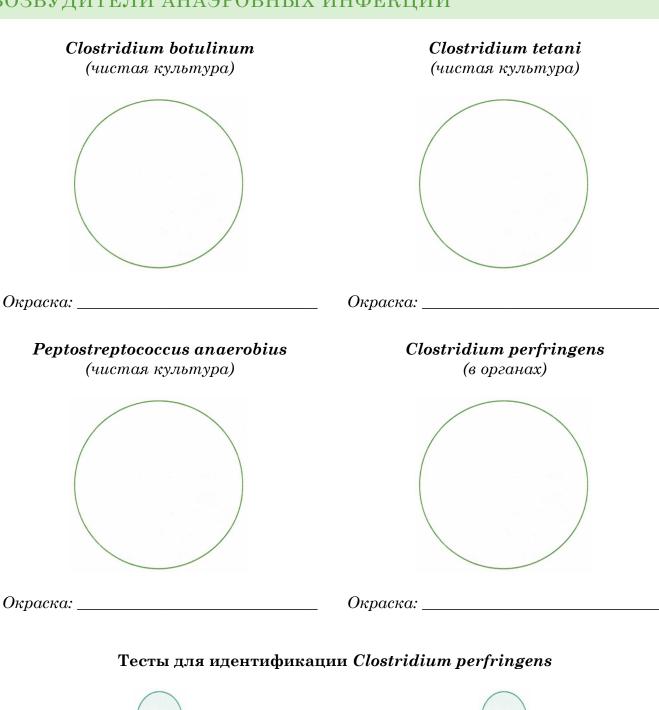
#### 2) Взятие материала:

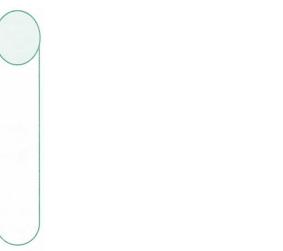
- Должно проводиться при наличии признаков анаэробной инфекции до начала антибиотикотерапии до или во время вскрытия/дренирования очага.
- Необходимо минимизировать контакт образца с кислородом.
- Исследуемый материал необходимо забирать непосредственно из гнойного очага инфекции (не с поверхности кожи!), соблюдая при этом правила асептики, стараясь не контаминировать биоматериал посторонней микрофлорой.
- Кровь для посева берут асептически из области локтевой вены на высоте лихорадки, троекратно, с интервалом 30 минут. Первичный посев крови производят в коммерческие флаконы для гемокультивирования (для анаэробов).
- Взятие большого количества биоматериала повышает вероятность обнаружения облигатных анаэробов.
- Одновременно со взятием биоматериала для бактериологического исследования необходимо проведение микроскопии для ориентировочного диагноза.

#### 3) Хранение и доставка материала:

- Хранить и транспортировать взятый биоматериал следует *при комнатной температуре*.
- Исследуемый материал *помещают в анаэробную транспортную среду* (например, тиогликолевую, из которой предварительно удален кислород, а на поверхность среды наслоен стерильный глицерин, или в коммерческие среды для транспортировки).
- В отдельных случаях при отсутствии специальных транспортных сред допускается экстренная транспортировка биоматериала для исследования на анаэробную инфекцию отделяемого, набранного в стерильный шприц, игла которого воткнута в резиновую пробку.
- Максимальное время для транспортировки, от взятия биоматериала до посева на питательные среды и создания бескислородной атмосферы, *не должно превышать 2 часа*. Часто инфекция носит смешанный аэробно-анаэробный характер. Задержка доставки биоматериала более, чем на 2 часа, может привести к вытеснению облигатных анаэробов факультативно-анаэробными бактериями, что приведет к ложноотрицательному результату исследования.
- В случае невозможности доставки в микробиологическую лабораторию **флаконы с** посевами крови хранятся при комнатной температуре не более 24 часов!

# возбудители анаэробных инфекций





Рост на среде Вильсона-Блера



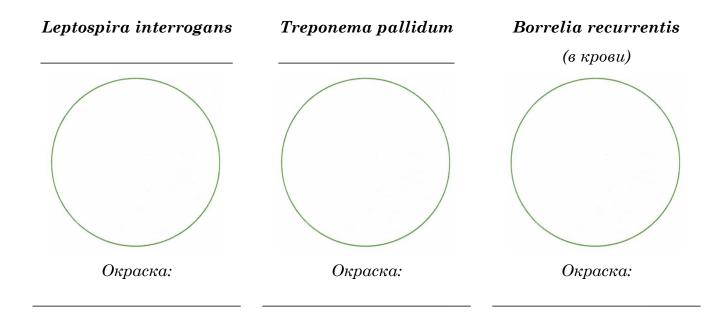
**Створаживание** молока

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА БОТУЛИНИЧЕСКОГО ТОКСИНА С ПОМОШЬЮ РПГА (РОНГА)

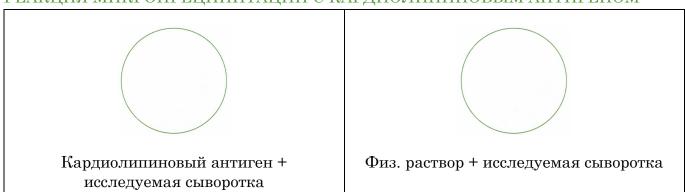
Ингредиенты	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Контроль антигена
Изотонический р-р, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Исследуемый материал (промывные воды желудка, разведение 1:5), мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить	_
Антительный эритроцитарный диагностикум соответствующего серотипа, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Ин	кубац	ия прі	и комн	атной	і темп	ератур	)e	
		I	Результ	гат (+/-)	):			
С поливалентным диагностикумом ABE								
С диагностикумом А								
С диагностикумом В								
С диагностикумом Е								
ВЫВОДЫ: Реакция пассивной гемагглютинации положительная с								

# РАЗДЕЛ: «ЧАСТНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ (продолжение)»

#### ПАТОГЕННЫЕ СПИРОХЕТЫ



#### РЕАКЦИЯ МИКРОПРЕЦИПИТАЦИИ С КАРДИОЛИПИНОВЫМ АНТИГЕНОМ



### ВЫВОДЫ: Реакция положительная/отрицательная.

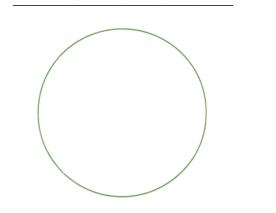
## РПГА ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Ингредиенты	1	2	3	4	5	6	Контроль антигена
Сыворотка пациента в разведении	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	-
Эритроцитарный трепонемный диагностикум, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0
Результаты:							

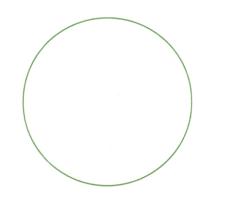
ВЫВОДЫ: РПГА положительная/отрицательная.

Титр антител к бледным трепонемам \_\_\_\_\_\_, что **подтверждает/не подтверждает** диагноз сифилиса. Диагностический титр 1:8 – 1:16)

# ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЕТЕЙ







Окраска: \_\_\_\_\_

# РАЗДЕЛ: «ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ»

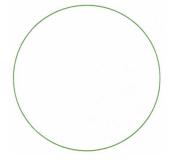
# ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

РЕАКЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ (РБН) В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ АДЕНОВИРУСА

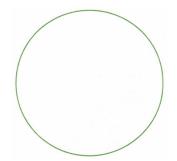
Аденовирус	Аденовирус	Аденовирус		К	онтроли:		
+ сыв. 3	+ сыв. 4	+ сыв. 7	Культ. клеток	Вируса	Сыв.3	Сыв.4	Сыв.7
вывод:							

Реакция гемадсорбции ЦПД аденовирусов (внутриядерные включения)

ЦПД вирусов бешенства *(тельца Бабеша-Негри)* 



Титр вируса\_





РЕАКЦИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РГА) ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВИРУСА ГРИППА В АЛЛАНТОИСНОЙ ЖИДКОСТИ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Ингредиенты	P	азведен	Контроль								
_	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	эритроцитов					
Изотонический р-р	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5					
хлорида натрия, мл	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0					
Аллантоисная											
жидкость											
(вируссодержащий		<b>*</b> [	<b>*</b>	<b>*</b>	<b>*</b>						
материал), мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить						
1% суспензия											
эритроцитов, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	$0,\!5$	0,5					
Перемешать, инкуби	Перемешать, инкубировать при комнатной температуре в течение 30-60 мин.										
Результаты:											
ВЫВОДЫ: РГА поло	эжите.	пьная/о	трицаг	пельная	и. В аллантои	сной жидкости					
обнаружен/не обнару	<b>жен</b> ви	рус, обл	адающи	й гемагг	лютинирующеї	й способностью.					

58

### РЕЗУЛЬТАТЫ РСК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СЕРОТИПА ВИРУСА ГРИППА

	Разведения сыворотки						Контроли				
Результаты:	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Эритр.	Компл.	Гем. Системы	C <sub>b</sub> IB. A	Сыв. В
Сыворотка против											
вируса гриппа А											
Сыворотка против											
вируса гриппа В											
ВЫВОДЫ: РСК положительная с сывороткой											
следовательно иденти	фицир	ован (	сероти	п виру	са гри	ппа		_•			

Условные обозначения: «+» – наличие гемолиза (РСК «–»), «–» – отсутствие гемолиза (РСК «+»).

#### СХЕМА ПОСТАНОВКИ РТГА

### ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОДТИПА ВИРУСА ГРИППА

Разведения	$egin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$		5	Контроли						
вируса	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	вируса	сывороток	эритр.		
Изотонический р-р NaCl, мл	_	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0		
Исследуемый вирус 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	_	_		
Первый ряд:										
Сыворотка к вирусу				1		_	0,5	_		
H1N1 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить					
Второй ряд:					(					
Сыворотка к вирусу				1		_	$0,\!5$	_		
H3N2 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить					
1% суспензия	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
эритроцитов, мл	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
			Pe	зульт	аты:					
С сыв. к вирусу										
гриппа H1N1										
С сыв. к вирусу										
гриппа H3N2										
выводы: РТГА п	оложи	тельн	ая с с	ыворо	гкой к под	типу вир	уса гриппа <sub>-</sub>	до		
ттра										

Условные обозначения: «+» – наличие гемагглютинации (РТГА «-»), «-» – отсутствие гемагглютинации (РТГА «+»).

# РЕЗУЛЬТАТЫ РТГА С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ГРИППА

		Pa	зведе	ния с	Контроли							
Результаты:	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Bupyca H1N1	Вируса H3N2	Эритроц.	Сыв. 1	C <sub>biB</sub> . 2
Диагностикум (H1N1)												
Сыв. 1												
Сыв. 2												
Сыв. 1												
Сыв. 2												
ВЫВОДЫ: РТГА положительная с диагностикумом												
	Титр антител в сыворотке 1, в сыворотке 2; кратное нарастание											
1 -	титра антител во второй сыворотке позволяет/не позволяет подтвердить диагноз											
гриппа. Грипп	гриппа. Грипп вызван вирусом											

Условные обозначения:

«+» – наличие гемагглютинации (РТГА «-»), «-» – отсутствие гемагглютинации (РТГА «+»).

### ИССЛЕДОВАНИЯ СМЫВА ИЗ НОСОГЛОТКИ БОЛЬНОГО ПРИ ГРИППЕ

**Материал для исследования** – смыв из носоглотки.

<u>Цель исследования</u> – выделение и идентификация возбудителя.

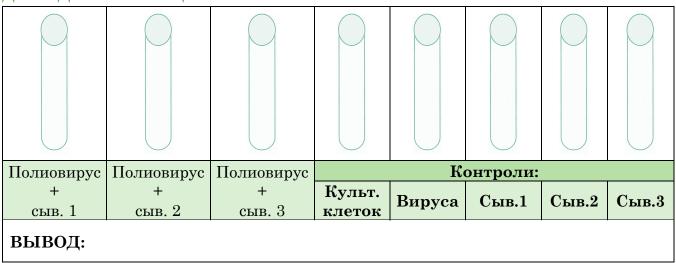
Предварительный клинический диагноз – грипп (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1	Заражение исследуемым материалом 7-дневных куриных эмбрионов. Инкубирование при температуре 37°C в течение 48 часов.	
2	<ol> <li>Вскрытие куриных эмбрионов, взятие аллантоисной жидкости стерильным шприцом в асептических условиях.</li> <li>Постановка РГА для индикации вируса.</li> <li>Постановка РСК для определения серотипа вируса гриппа.</li> <li>Постановка РТГА для определения подтипа вируса гриппа.</li> </ol>	
Через	Исследование парных сывороток больного в РТГА.	
	ние и выводы: Из носоглоточного смыв подтип Грипп вызван вирусов ком исследовании парных	м При

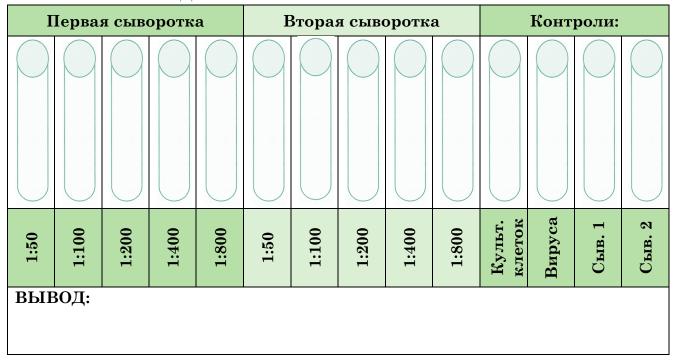
4	$(\Pi_0)_{n=0}$	10	реподавателя	,
۱	110011410	$I\iota$	реновашеля	,

# ВОЗБУДИТЕЛИ ЭНТЕРОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ГЕПАТИТОВ

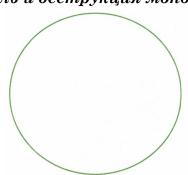
РЕАКЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ (РБН) В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОЛИОВИРУСА



РБН В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПОЛИОМИЕЛИТА



ЦПД вирусов\_полиомиелита (гибель и деструкция монослоя)



TX	Опыт	-								
Ингредиенты	A1 A2	B1 B2	C1 C2	D1 D2	E1 E2	F1 F2	G1 G2	H1 H2		
1. Буфер А (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Инкубация при комнатной температуре 10 мин.										
2. Сыворотка больного (мл)	0,1*						_	_		
3. Стандартный антиген 100 мкг/мл (мл)	_	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 слить	_		
4. Отрицательный контроль (мл)			_		_	_	——————————————————————————————————————	0,1		
Инкубация при 37°С в течение 20 мин., отмывка										
*Добавить 0,1 мл, аккуратно перемешать и слить 0,1 мл (во всех лунках должен быть одинаковый объем жидкостей)										
<b>(во всех лун</b> 5. Конъюгат (мл)										
5. Конъюгат (мл)       0,1       0,1       0,1       0,1       0,1       0,1       0,1       0,1         Инкубация при 37°C в течение 20 мин., отмывка										
6. Субстрат (мл)	0,1	0.1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0,1		
							е 20 мин.	0,1		
7. «Стоп-реагент» (50%H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) (мл)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		
Фотометр вертикального сканирования измеряет оптическую плотность содержимого дунок планшета.										
	T		 		I	 				
Результаты (+/—):										

(Подпись преподавателя)

Концентрация HBs антигена в исследуемой сыворотке \_\_\_\_\_ мкг/мл