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

Рабочая тетрадь по частной микробиологии

г. Москва

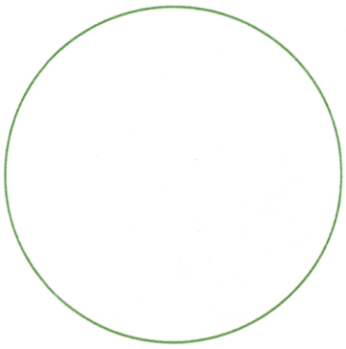
СОСТАВИТЕЛИ:

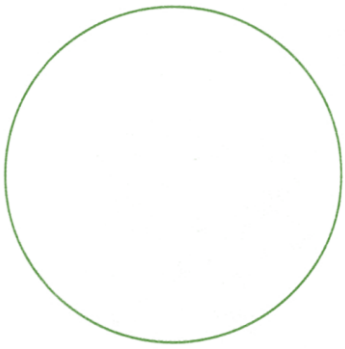
Коллектив кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ИОЗ имени Ф.Ф. Эрисмана
ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Под редакцией академика РАН, профессора В.В. Зверева

ИС № группы_____ ФИО _____

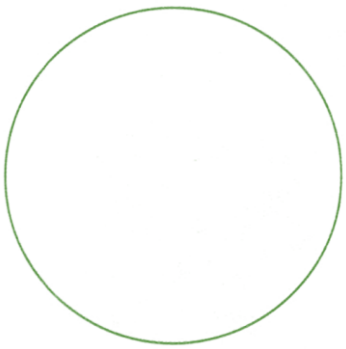
_____ _____

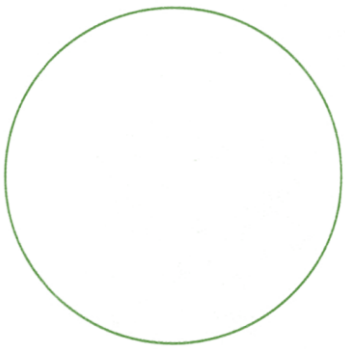




Окраска: _____ *Окраска:* _____

_____ _____





Окраска: _____ *Окраска:* _____

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

Материал для исследования – фекалии больного.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – дизентерия (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕКАЛИЙ (КОПРОКУЛЬТУРЫ) БОЛЬНОГО ПРИ КОЛИЭНТЕРИТЕ

Материал для исследования – фекалии больного.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – колиэнтерит (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

_____

(Подпись преподавателя)

БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

КЛАССИФИКАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛ (СХЕМА КАУФМАНА-УАЙТА)

Серогруппа, серовар, вид	О-антиген	Н-антиген	
		Фаза 1	Фаза 2
Серогруппа 2 (A)			
• S. Paratyphi A	1, 2, 12	a	(1, 5)
Серогруппа 4 (B)			
• S. Paratyphi B (S. Schottmuelleri)	1, 4(5), 12	b	1, 2
• S. Derby	1, 4(5), 12	f, g	1, 2
• S. Agona	1, 4(5), 12	f, g, s	(1, 2)
• S. Typhimurium	1, 4(5), 12	i	1, 2
Серогруппа 6,7 (C1)			
• S. Paratyphi C	6, 7, (Vi)	c	1, 5
• S. Choleraesuis	6, 7	c	1, 5
• S. Infantis	6, 7, 14	r	1,5
Серогруппа 9 (D_1)			
• S. Typhi	9, 12 (Vi)	d	–
• S. Enteritidis	1, 9, 12	g, m	–
• S. Dublin	1, 9, 12 (Vi)	g, p	–
• S. Moscow	9, 12	g, q	–
• S. Panama	1, 9, 12	l, v	1,5
Серогруппа 3, 10 (E_1)			
• S. London	3, 10 (15)	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 _____.
_____-кратное увеличение титра антител 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 _____
подтверждает/не подтверждает диагноз _____.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ БОЛЬНОГО ПРИ БРЮШНОМ ТИФЕ (ПАРАТИФАХ)

Материал для исследования – кровь больного.

Цель исследования – 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		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РВОТНЫХ МАСС БОЛЬНОГО ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ

Материал для исследования – рвотные массы больного.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – сальмонеллез (?)

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Название бактерий	**Среда Клиглера**	**Цитрат Симмонса**	**Среда с лизином**
Незасеянные пробирки			
Salmonella sp.			
Shigella sp.			
Escherichia sp.			

(Подпись преподавателя)

БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ (ЗАВЕРШЕНИЕ)

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РВОТНЫХ МАСС БОЛЬНОГО ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ХОЛЕРУ

Материал для исследования – рвотные массы больного.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – холера (?)

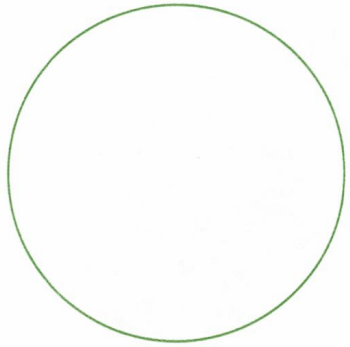
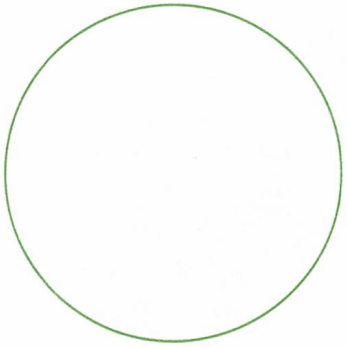
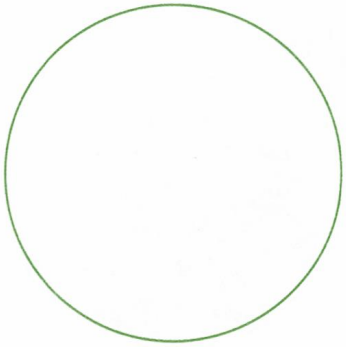
День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1		
2		
3		
4		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

Clostridium botulinum *(чистая культура)*	*Brucella abortus* *(чистая культура)*	*Vibrio cholerae* *(чистая культура)*
		
Окраска: _____	*Окраска:* _____	*Окраска:* _____

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА БОТУЛИНИЧЕСКОГО ТОКСИНА С ПОМОЩЬЮ 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
Инкубация при комнатной температуре								
Результат (+/-):								
С поливалентным диагностикумом АВЕ								
С диагностикумом А								
С диагностикумом В								
С диагностикумом Е								

ВЫВОДЫ:

Реакция пассивной гемагглютинации положительная с _____.

РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА (РЕАКЦИЯ РАЙТА)

Ингредиенты	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	Контроль антигена	Контроль сыворотки
Изотонический р-р NaCl, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Сыворотка больного 1:25, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 слить	–	0,5
Диагностикум (в каплях)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–
Разведения сыворотки	**1:50**	**1:100**	**1:200**	**1:400**	**1:800**	–	**1:25**
Результат:							

ВЫВОД: Реакция агглютинации **положительная/отрицательная**. Титр антител к бруцеллам _____, что **подтверждает/не подтверждает** диагноз бруцеллеза.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ВИДОВ БРУЦЕЛЛ

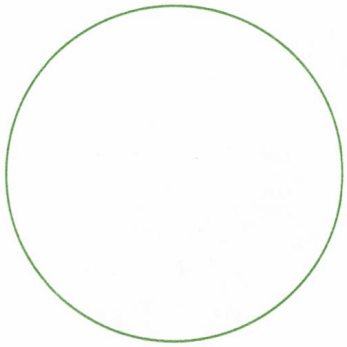
Вид бруцелл	**Условия культивирования в первых генерациях**	**Бактериостатическое действие анилиновых красителей**			**Образование сероводорода**
		Фуксин 1:50000	Тионин 1:25000	Пиронин 1:200000	
B. melitensis	Аэробные				
B. suis	Аэробные				
B. abortus	При 5-10% CO_2				

_____

(Подпись преподавателя)

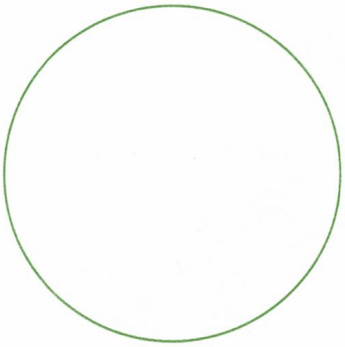
БАКТЕРИИ – ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Mycobacterium tuberculosis
(в мокроте)



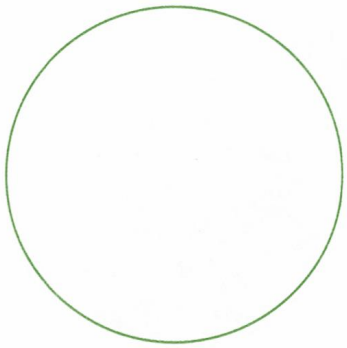
Окраска: _____

Mycobacterium bovis
(чистая культура)



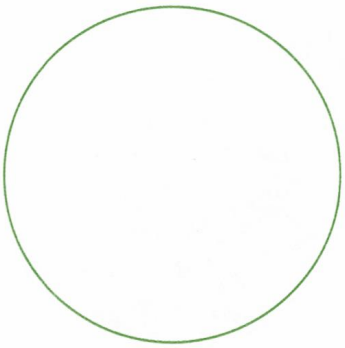
Окраска: _____

Mycobacterium tuberculosis
(cord-фактор)



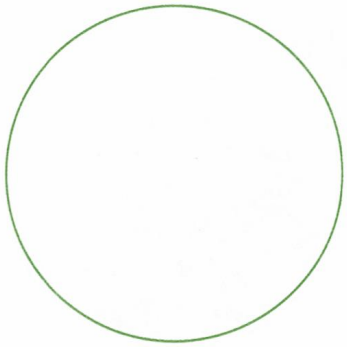
Окраска: _____

Bordetella pertussis
(чистая культура)



Окраска: _____

Corynebacterium diphtheriae
(чистая культура)

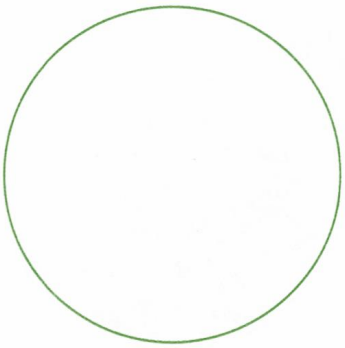


Окраска: _____

_____
(Подпись преподавателя)

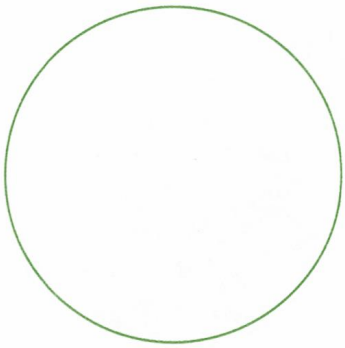
ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ПАТОГЕННЫЕ КОККИ (СТАФИЛОКОККИ, СТРЕПТОКОККИ, НЕЙССЕРИИ)

Streptococcus pneumoniae
(в органах)



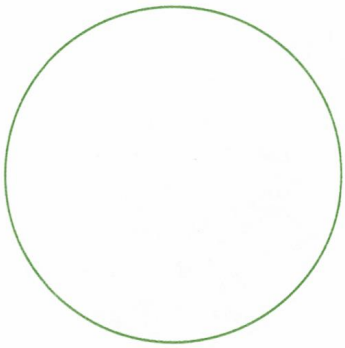
Окраска: _____

Streptococcus pyogenes
(чистая культура)



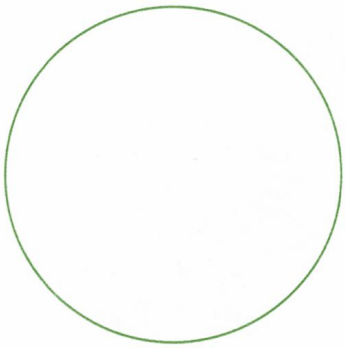
Окраска: _____

Staphylococcus aureus
(в гное)



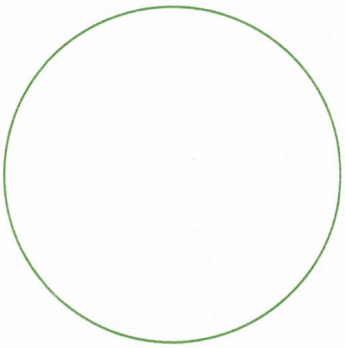
Окраска: _____

Neisseria gonorrhoeae
(в гное)



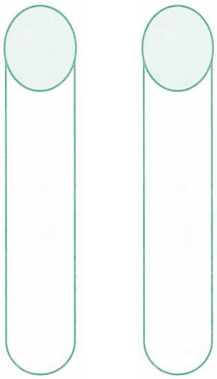
Окраска: _____

Neisseria meningitidis
(чистая культура)

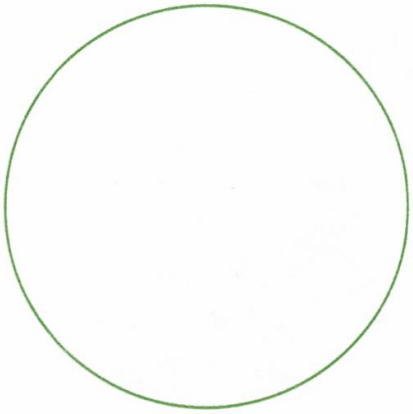


Окраска: _____

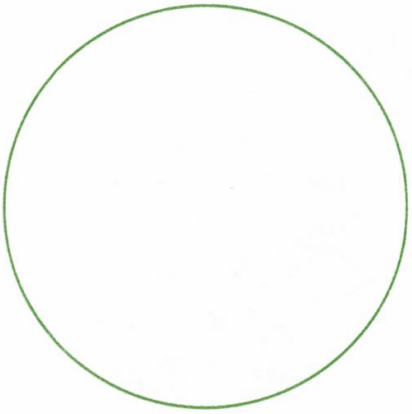
ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ



Плазмокоагулаза



Рост на 5% кровяном агаре



Рост на ЖСА (лецитовителлаза)

ИССЛЕДОВАНИЯ ГНОЯ

Материал для исследования – отделяемое по дренажу.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – послеоперационное нагноение.

День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1	1) Приготовление мазка из исследуемого материала и окраска по Граму (бактериоскопическое исследование). 2) Посев исследуемого материала на желточно-солевой и 5% кровяной агар.	
2	1) Микроскопия колоний (окраска по Граму). 2) Пересев на скошенный МПА для накопления чистой культуры.	
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.	• Доксициклин ____ мм • _____ ____ мм • _____ ____ мм • _____ ____ мм • _____ ____ мм

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: _____

_____

_____

_____

_____

(Подпись преподавателя)

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:

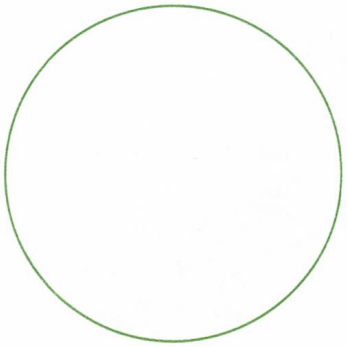
- Должно проводиться при наличии признаков анаэробной инфекции до начала антибиотикотерапии до или во время вскрытия/дренирования очага.
- Необходимо минимизировать контакт образца с кислородом.
- Исследуемый материал необходимо забирать непосредственно из гнойного очага инфекции (не с поверхности кожи!), 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 КЛОСТРИДИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ПСЕВДОМОНАДЫ

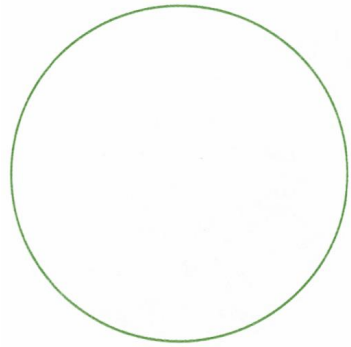
Clostridium perfringens
(в органах)



Окраска:

_____

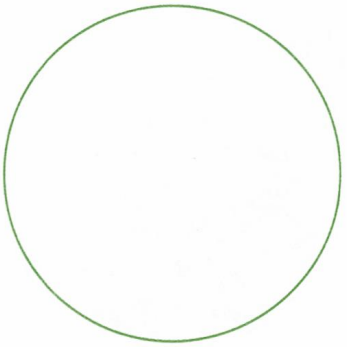
Clostridium tetani
(чистая культура)



Окраска:

_____

Pseudomonas aeruginosa
(чистая культура)



Окраска:

_____

Тесты для идентификации *Clostridium perfringens*

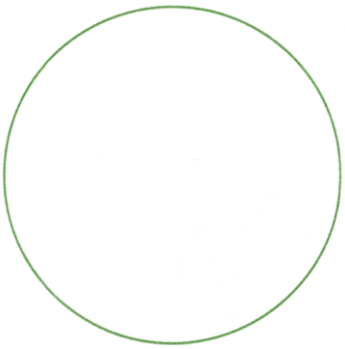
Рост на среде Вильсона-Блера

Створаживание молока

_____

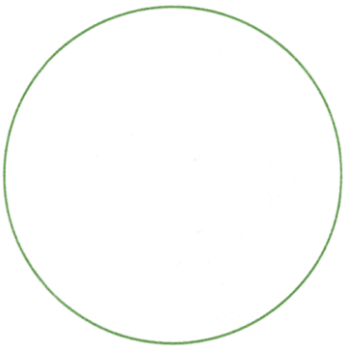
(Подпись преподавателя)

_____



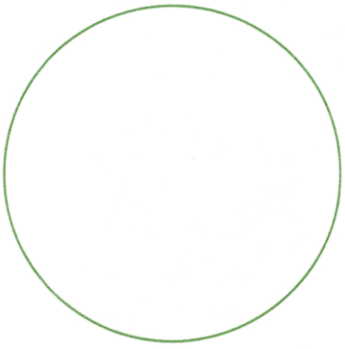
Окраска: _____

_____



Окраска: _____

_____



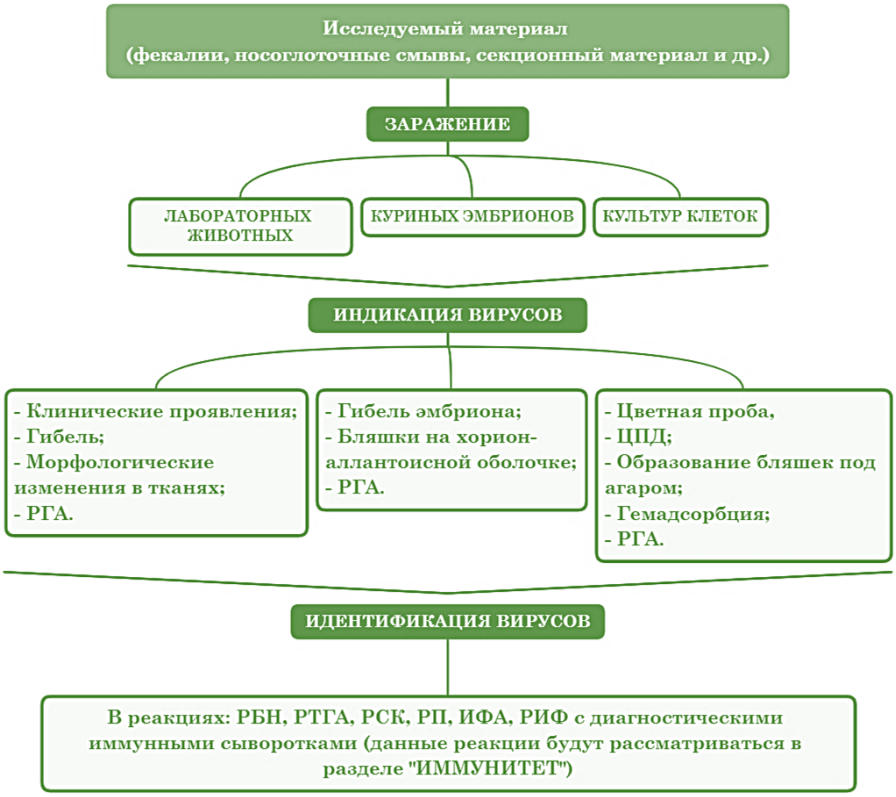
Окраска: _____

_____

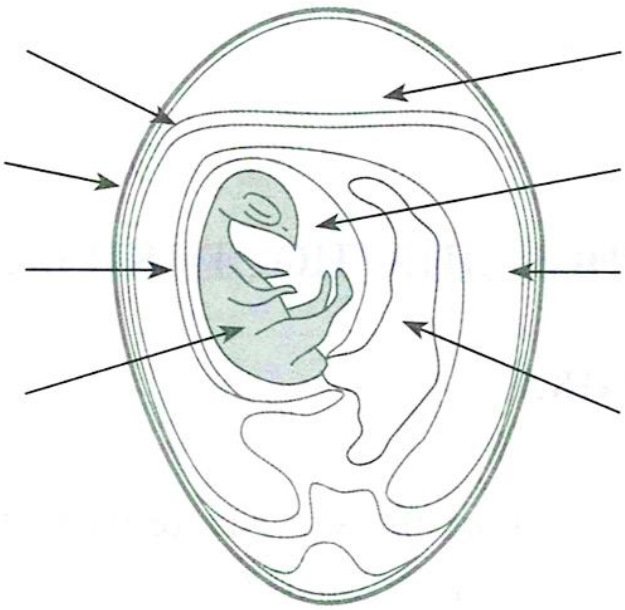
(Подпись преподавателя)

ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСОВ (ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ)



Обозначьте на рисунке основные структурные элементы куриного эмбриона.
Укажите возможные пути введения вируссодержащего материала.

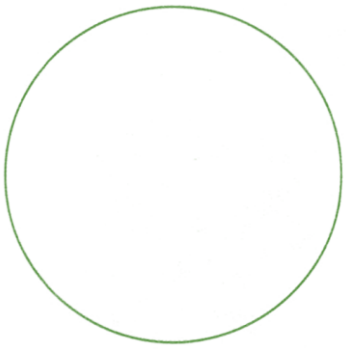


КЛАССИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК:

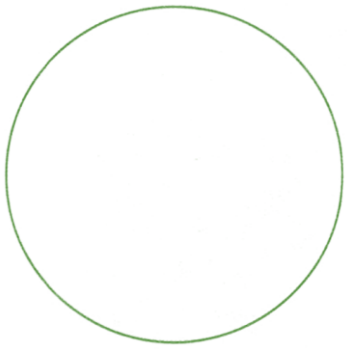
ОДНОСЛОЙНЫЕ КУЛЬТУРЫ		
Первичные: Культуры клеток на стадии непосредственно после выделения клеток и до первого посева.	**Полуперевиваемые:** Их можно пассировать (перевивать) несколько раз. Используют диплоидные клетки человека (фибробласты человеческого эмбриона, диплоидные клетки легких человека).	**Перевиваемые:** Клетки культуры постоянно делятся в условиях *in vitro* (вне организма), поэтому их можно перевивать непрерывно. Их готовят из линий клеток, которые хорошо размножаются в течение многих лет. Чаще всего эти культуры получают из опухолевых клеток, например, штамм L (из культуры мышиных фибробластов), штамм HeLa (из карциномы шейки матки), штамм Hep-3 (из лимфоидной карциномы).

МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ ВИРУСОВ

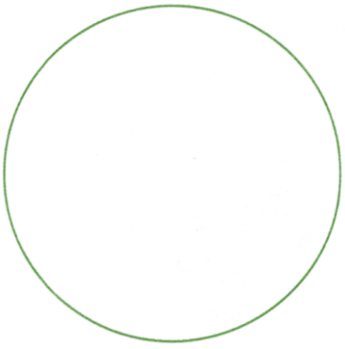
Культура клеток типа HeLa



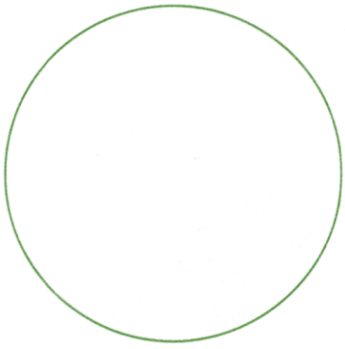
Культура клеток куриных фибробластов



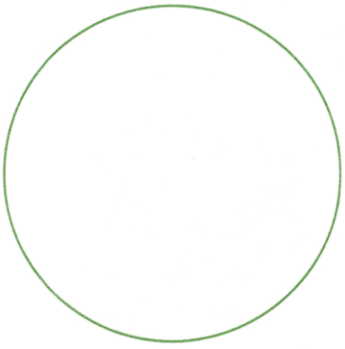
ЦПД вирусов: гибель и деструкция монослоя



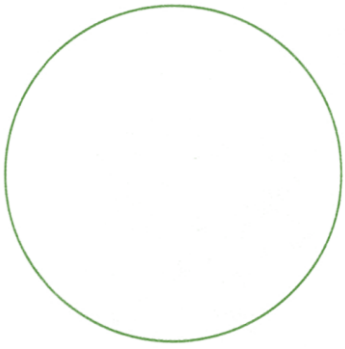
ЦПД вирусов: цитоплазматические включения



ЦПД вирусов: внутриядерные включения



Тельца Бабеша-Негри в культуре клеток



ЦВЕТНАЯ ПРОБА:

Вирус присутствует

до инкубации | после инкубации

Вирус отсутствует

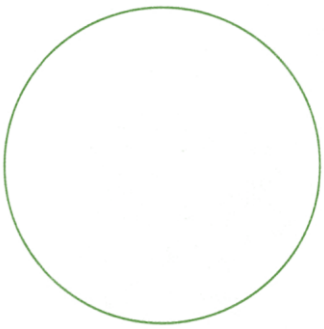
до инкубации | после инкубации

ФЕНОМЕН ГЕМАДСОРБЦИИ:

Принцип метода:

_____

_____



ОБРАЗОВАНИЕ БЛЯШЕК ПОД АГАРОМ:

Принцип метода:

_____

_____

_____

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

Ингредиенты	**Разведения вируссодержащего материала**					**Контроль эритроцитов**
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
Изотонический р-р хлорида натрия, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Аллантоисная жидкость (вируссодержащий 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, инкубировать при комнатной температуре в течение 30- 60 мин.						
Результаты:						

ВЫВОДЫ: РГА ***положительная/отрицательная***.

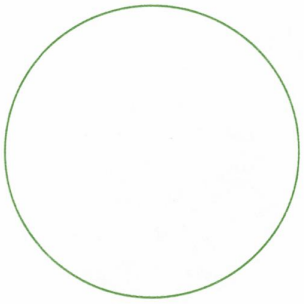
В аллантоисной жидкости ***обнаружен/не обнаружен*** вирус, обладающий гемагглютинирующей способностью.

Титр вируса _____.

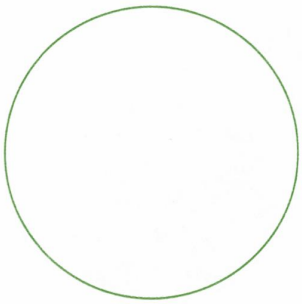
РЕАКЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ (РБН) В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ АДЕНОВИРУСА

Аденовирус + сыв. 3	Аденовирус + сыв. 4	Аденовирус + сыв. 7	**Контроли:**				
			Культ. клеток	**Вируса**	**Сыв.3**	**Сыв.4**	**Сыв.7**
ВЫВОД:							

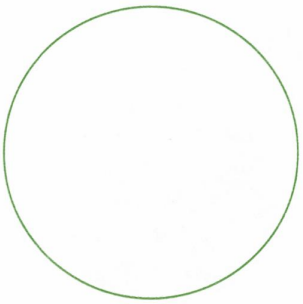
Реакция гемадсорбции



ЦПД аденовирусов
(внутриядерные включения)



ЦПД вирусов бешенства
(тельца Бабеша-Негри)



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

Ингредиенты	**Разведения вируссодержащего материала**					**Контроль эритроцитов**
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
Изотонический р-р хлорида натрия, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Аллантоисная жидкость (вируссодержащий 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, инкубировать при комнатной температуре в течение 30-60 мин.						
Результаты:						

ВЫВОДЫ: РГА ***положительная/отрицательная***. В аллантоисной жидкости ***обнаружен/не обнаружен*** вирус, обладающий гемагглютинирующей способностью. Титр вируса _____.

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	Сыв.А	Сыв. В
Сыворотка против вируса **гриппа А**											
Сыворотка против вируса **гриппа В**											
ВЫВОДЫ: РСК положительная с сывороткой _____, следовательно идентифицирован серотип вируса гриппа _____. Титр вируса _____.											

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

СХЕМА ПОСТАНОВКИ РТГА
ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОДТИПА ВИРУСА ГРИППА

Разведения вируса	1	2	3	4	5	Контроли		
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	вируса	сыв. А1/А3	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 слить	0,5	–	–
Первый ряд: Сыворотка к вирусу **А1** (H1N1) 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5	–
Второй ряд: Сыворотка к вирусу **А3** (H3N2) 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5	–
1% суспензия эритроцитов, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Результаты:								
С сыв. к вирусу гриппа **А1** (H1N1)								
С сыв. к вирусу гриппа **А3** (H3N2)								
ВЫВОДЫ: РТГА положительная с сывороткой _____, подтип вируса гриппа _____. В титре _____.								

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

РЕЗУЛЬТАТЫ РТГА С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ГРИППА

Результаты:	Разведения сыворотки							Контроли				
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Вируса А1	Вируса А3	Эритроц.	Сыв. 1	Сыв. 2
Диагностикум А1 (H1N1)												
Сыв. 1												
Сыв. 2												
Диагностикум А3 (H3N2)												
Сыв. 1												
Сыв. 2												

ВЫВОДЫ: РТГА положительная с диагностикумом _____. Титр антител в сыворотке 1 _____, в сыворотке 2 _____; _____- кратное нарастание титра антител во второй сыворотке **позволяет/не позволяет** подтвердить диагноз 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.

Цель исследования – выделение и идентификация возбудителя.

Предварительный клинический диагноз – грипп (?)

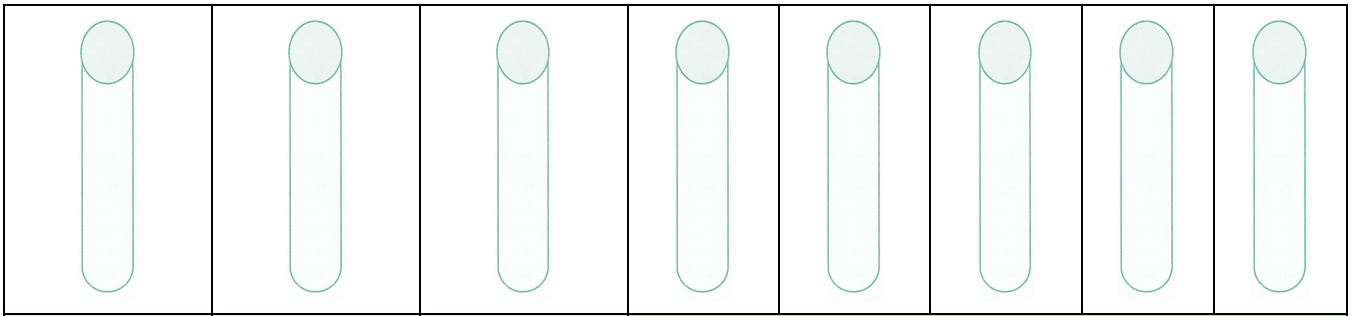
День	Ход исследования	Результат исследования/ промежуточные выводы
1	Заражение исследуемым материалом 7-дневных куриных эмбрионов. Инкубирование при температуре 37°С в течение 48 часов.	
2	1. Вскрытие куриных эмбрионов, взятие аллантоисной жидкости стерильным шприцом в асептических условиях. 2. Постановка РГА для индикации вируса. 3. Постановка РСК для определения серотипа вируса гриппа. 4. Постановка РТГА для определения подтипа вируса гриппа.	
Через 2-3 недели	Исследование парных сывороток больного в РТГА.	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ: Из носоглоточного смыва выделен вирус гриппа типа _____ подтип _____. Грипп вызван вирусом_____. При серологическом исследовании парных сывороток обнаружено _____.

_____

(Подпись преподавателя)

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

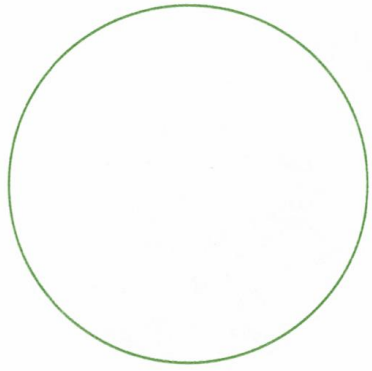


Полиовирус + сыв. 1	Полиовирус + сыв. 2	Полиовирус + сыв. 3	**Контроли:**				
			Культ. клеток	**Вируса**	**Сыв.1**	**Сыв.2**	**Сыв.3**
ВЫВОД:							

РБН В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК С ПАРНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПОЛИОМИЕЛИТА

Первая сыворотка					**Вторая сыворотка**					**Контроли:**			
1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	Культ. клеток	Вируса	Сыв. 1	Сыв. 2
ВЫВОД:													

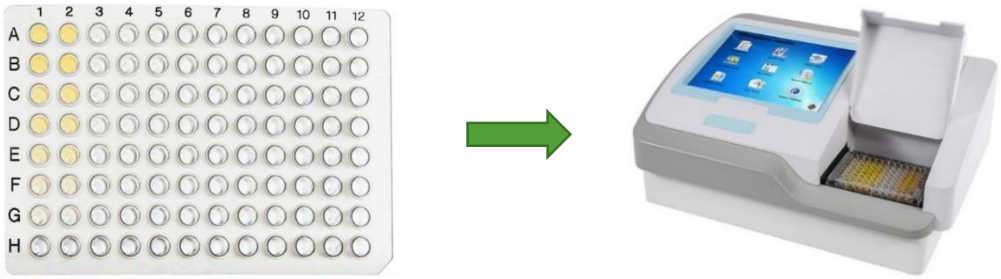
ЦПД вирусов_полиомиелита
(гибель и деструкция монослоя)



(Подпись преподавателя)

СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

Ингредиенты	Опыт	«Положительный контроль»						«Отриц. контроль»
	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)								
5. Конъюгат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при 37°С в течение 20 мин., отмывка								
6. Субстрат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при комнатной температуре 20 мин.								
7. «Стоп-реагент» (50%H_2SO_4) (мл)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05



Фотометр вертикального сканирования измеряет оптическую плотность содержимого лунок планшета.

Результаты (+/—):								

ВЫВОДЫ: ИФА **положительная/отрицательная**

Концентрация HBs антигена в исследуемой сыворотке _____ мкг/мл

_____

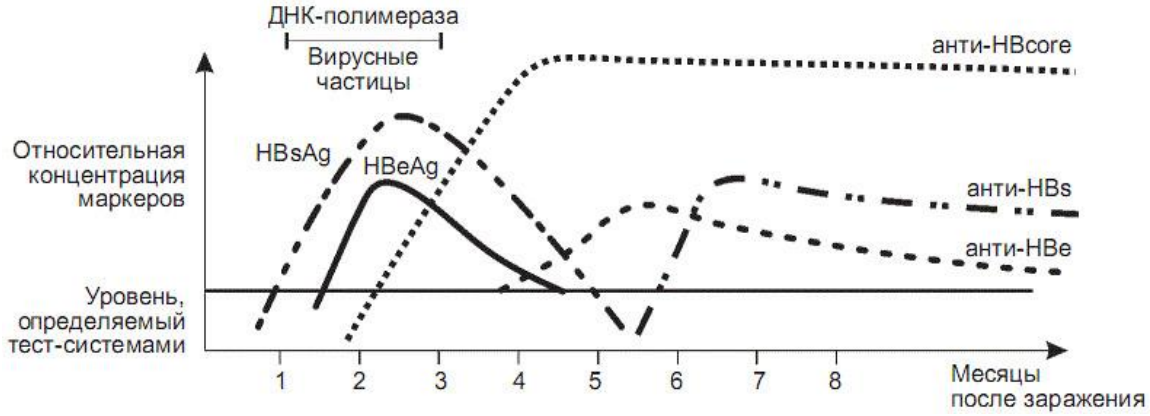
(Подпись преподавателя)

АНТИГЕННЫЕ МАРКЕРЫ ГЕПАТИТА В:

HBs-Ag (австралийский антиген) является маркером инфицированности гепатитом В.
HBe-Ag свидетельствует о репликации ВГВ;
HBc–Ag в сыворотке крови не определяется.
HBx–Ag - белковый сердцевинный антиген, малоизучен. В сыворотке крови не определяется.

Антительные маркеры гепатита В:

Анти-HBs -антитела (IgM/IgG) свидетельствуют о выздоровлении пациента и сохраняются в течение 5-10 лет. Наличие антител против HBsAg у вакцинированных лиц свидетельствует об успешной иммунизации.
Анти-HBe-антитела могут выявляться у переболевших.
Анти-HBc IgM определяются в остром периоде заболевания.
Анти-HBc IgG обнаруживаются у больных острой формой в периоде реконвалесценции, при хроническом течении заболевания, а также у лиц, переболевших гепатитом В.

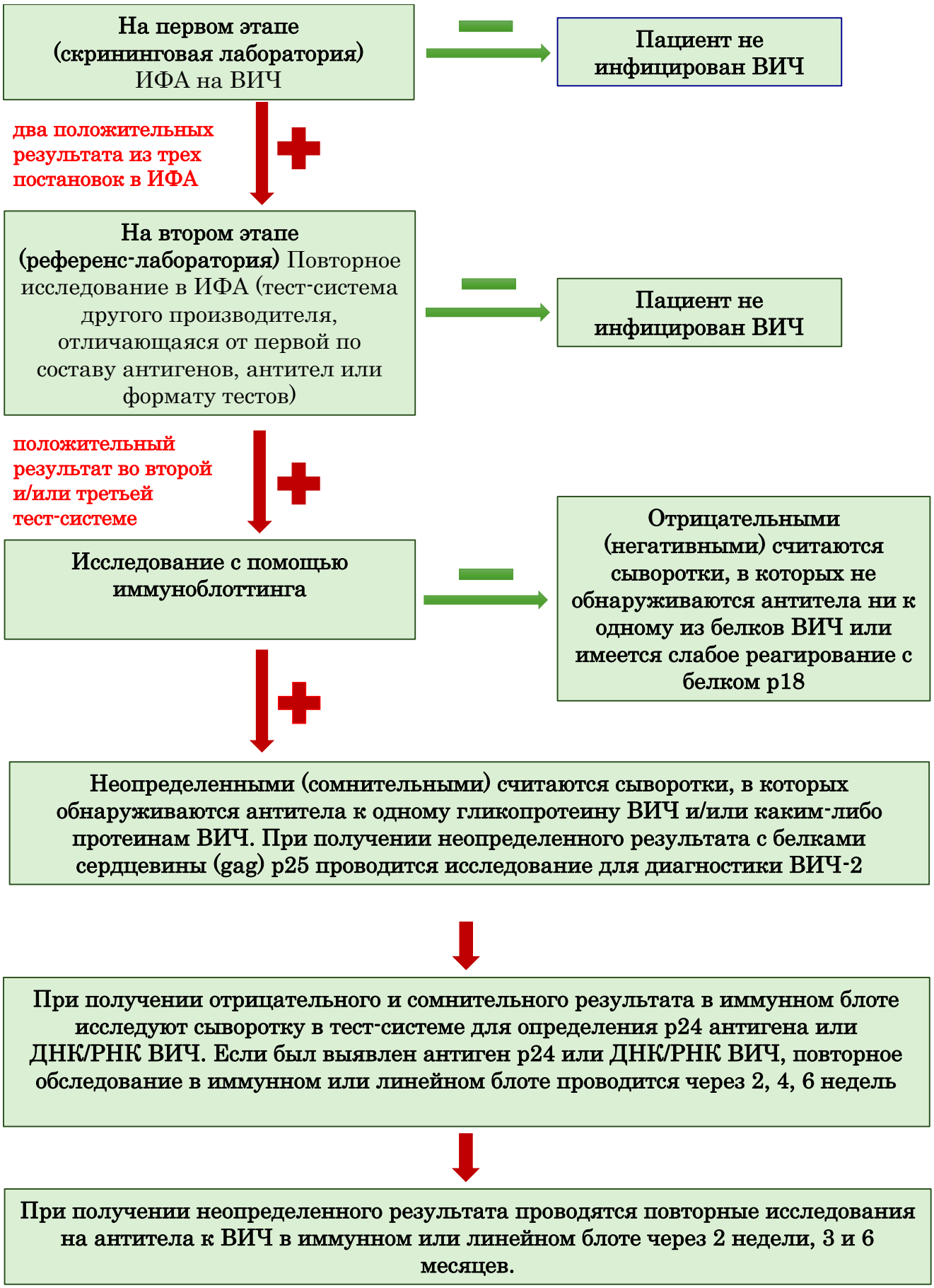


МАРКЕРЫ HBV-ИНФЕКЦИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ

Интерпретация	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc		HBeAg	Anti-HBe	HBV ДНК
			IgM	IgG			
ОГВ* (поздний инкубационный период)	+	-	-	-	-	-	+++
ОГВ (первые проявления заболевания)	+	-	-	-	+	-	+++
ОГВ (разгар заболевания)	+	-	+	+	+	-	+++
Реконвалесценция, сопровождающаяся элиминацией вируса	-	+	-	+	-	+	-
Обострение ХГВ**; Реактивация вируса	+	-	+/-	+	+/-	-/+	++
Перенесенный гепатит В	-	+/-	-	+	-	-	-
Иммунитет после вакцинации	-	+	-	-	-	-	-

* ОГВ – острый гепатит В; ХГВ** – хронический гепатит В;

МАРКЕРЫ HBV- И HDV-ИНФЕКЦИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ

Интерпретация	HBsAg	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc IgM	HBV ДНК	Anti-HDV IgM	Anti-HDV IgG	HDV РНК
Коинфекция HBV+HDV	+	+	-	+	+++	+	-	+
ХГВ и суперинфекция HDV	+	-	+	-	+/-	+	+	+
Реконвалесценция после HBV+HDV	+	-	+	-	-	-	+	-

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ТЕСТИРОВАНИЯ НА НАЛИЧИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ