

Учреждение образования
«Витебский государственный медицинский университет»
Кафедра клинической микробиологии

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по общей микробиологии
для студентов II курса фармацевтического факультета

Библиотека ВГМУ



Витебск
2015

УДК 579.61(072)

УДК 579:615.1 – 057.875 (072)

ББК 52.64 р30

М 54

Рецензенты: профессор кафедры инфекционных болезней ВГМУ,
д.м.н. Т.И. Дмитраченко;
зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники ВГМУ, профессор,
д.ф.н. Г.Н. Бузук

Генералов И.И.

М 54 Методические указания по общей микробиологии для студентов
II курса фармацевтического факультета: метод. указ. / И.И. Генералов,
Н.В. Железняк, А.В. Фролова, В.К. Окулич, И.В. Зубарева, А.М. Моисеева,
С.А. Сенькович, В.Е. Шилин – Витебск. - ВГМУ. - 2015. - 30 с.

Методические указания разработаны в соответствии с учебным планом для специальности «04.05. Фармация» и требованиями к квалификации провизора. Предназначены для студентов фармацевтических факультетов высших медицинских учебных заведений.

Утверждены и рекомендованы к изданию Центральным учебно-методическим Советом Витебского государственного медицинского университета (Протокол №10 от 17 декабря 2014 г.)

309854

УДК 579:615.1 – 057.875 (072)

ББК 52.64 р30

© УО «Витебский государственный медицинский университет», 2015

© Генералов И.И., Железняк Н.В., Фролова А.В.,
Зубарева И.В., Окулич В.К., Моисеева А.М.,
Сенькович С.А., Шилин В.Е. 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ЗАНЯТИЕ №1	4
<p>Устройство и оборудование микробиологической лаборатории. Правила работы. Систематика и номенклатура микроорганизмов. Морфология бактерий. Микроскопический метод исследования. Простые методы окраски.</p>	
ЗАНЯТИЕ №2	6
<p>Морфология и ультраструктура структура прокариотов. Сложные методы окраски.</p>	
ЗАНЯТИЕ №3	8
<p>Морфология и ультраструктура прокариотов (спирохеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы). Эукариоты (грибы и простейшие). Выделение чистой культуры аэробных бактерий (1 день исследования).</p>	
ЗАНЯТИЕ №4	9
<p>Физиология микроорганизмов. Питание, питательные среды. Рост, размножение, пигментообразование. Выделение чистой культуры аэробных бактерий (2-й день исследования).</p>	
ЗАНЯТИЕ №5	10
<p>Физиология микроорганизмов. Дыхание. Ферменты бактерий. Выделение чистой культуры аэробных бактерий (3 и 4-й день исследования).</p>	
ЗАНЯТИЕ №6	11
<p>Генетика микроорганизмов</p>	
ЗАНЯТИЕ №7	12
<p>Действие физических, химических и биологических факторов на микроорганизмы. Асептика. Антисептика. Дезинфекция. Стерилизация. Экология микроорганизмов. Нормальная микрофлора человека. Санитарно-бактериологическое исследование смыва с рук</p>	
ЗАНЯТИЕ №8	14
<p>Микрофлора воздуха, воды, почвы. Санитарно-бактериологическое исследование воды, воздуха. Фитопатогенные бактерии. Микрофлора лекарственного сырья и готовых лекарственных форм.</p>	
ЗАНЯТИЕ №9	15
<p>Итоговое занятие по теме «Морфология и физиология микроорганизмов. Санитарная бактериология».</p>	
ЗАНЯТИЕ №10	17
<p>Структура и функция системы иммунитета. Основные понятия иммунитета. Цитокины и интерлейкины. Развитие и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов.</p>	
ЗАНЯТИЕ №11	18
<p>Антигены. Антитела. Серологические реакции. Реакция преципитации.</p>	
ЗАНЯТИЕ №12	19
<p>Факторы естественного иммунитета. Фагоциты и фагоцитоз. Система комплемента. Серологические реакции: реакция связывания комплемента.</p>	
ЗАНЯТИЕ №13	20
<p>Динамика иммунного ответа. Серологические реакции: агглютинации, РПГА, реакция Кумбса, нейтрализации.</p>	
ЗАНЯТИЕ №14	21
<p>Оценка иммунного статуса. Серологические реакции: ИФА, РИА, РИФ, иммуноблоттинг. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии.</p>	
ЗАНЯТИЕ №15	22
<p>Имунопатология. Иммунодефициты. Аллергия. Аллергены. Кожно-аллергические пробы. Аутоиммунные заболевания. Противоопухолевый иммунитет, иммунитет в «системе мать-плод».</p>	
ЗАНЯТИЕ №16	23
<p>Итоговое занятие по теме «Иммунитет».</p>	
ЗАНЯТИЕ №17	25
<p>Химиотерапия. Антибиотики. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.</p>	
ЗАНЯТИЕ №18	27
<p>Инфекция. Роль микро- и макроорганизма в развитии инфекционного процесса. Патогенность, вирулентность. Формы взаимодействия микро- и макроорганизма. Виды инфекций.</p>	

ЗАНЯТИЕ №1

ТЕМА: Устройство и оборудование микробиологической лаборатории. Правила работы. Систематика и номенклатура микроорганизмов. Морфология бактерий. Микроскопический метод исследования. Простые методы окраски

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Ознакомиться с правилами работы в микробиологической лаборатории.
2. Знать устройство светового биологического микроскопа.
3. Научиться работать с иммерсионной системой микроскопа.
4. Научиться микроскопировать мазки, ознакомиться с правилами обращения с культурами микробов, приготовлением мазков, окраской их простым методом.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Международная классификация и таксономия микроорганизмов.
2. Основные морфологические формы бактерий.
3. Методы изучения морфологии и структуры бактерий.
4. Этапы приготовления мазков из агаровых и бульонных культур. Назначение простых методов окраски.
5. Принципы световой микроскопии. Иммерсионный объектив, его преимущества.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010, стр. 20-26, 33-35.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 5-7, 9-10, 11-13, 15-19, 20-23.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Приготовление мазков из бульонной культуры стафилококка. Окраска метиленовым синим.
2. Приготовление мазка агаровой культуры кишечной палочки. Окраска фуксином.
3. Микроскопия демонстрационных мазков стрептококков.
4. Микроскопия и зарисовка в альбом трех препаратов.

ПРЕПАРАТ №1

Staphylococcus aureus

Окраска метиленовым синим

ПРЕПАРАТ №2

Escherichia coli

Окраска фуксином

ПРЕПАРАТ №3

Streptococcus pyogenes

Окраска метиленовым синим

Правила работы в микробиологической лаборатории

Работа на кафедре микробиологии и в бактериологической лаборатории требует строгого соблюдения специальных правил, так как исследования проводятся с использованием культур микроорганизмов III-IV групп патогенности и инфицированного материала от пациентов.

Соблюдение этих правил необходимо для обеспечения не только личной безопасности, но и безопасности окружающих.

Запрещается:

1. Заходить в помещения кафедры микробиологии без спецодежды (халат, шапочка).

2. Работать в учебных лабораториях без необходимой спецодежды (халатов, шапочек, при необходимости – перчаток, масок).
3. Принимать пищу в учебных лабораториях кафедры.
4. Класть на столы или на пол в учебных лабораториях портфели и сумки.

Перед началом работы студент обязан:

1. Пройти первичный инструктаж по технике безопасности работы на кафедре микробиологии. В дальнейшем проходить повторный инструктаж по технике безопасности согласно графику проведения инструктажей.
2. Портфели, сумки, пакеты, книги и другие личные вещи положить в предназначенный для личных вещей студентов шкаф.
3. Проверить состояние рабочего стола и микроскопа. О всех обнаруженных недочетах немедленно сообщить своему преподавателю. (Рабочий стол и микроскоп закрепляют за студентом на все время его работы на кафедре).

Обязанности студентов и дежурных во время лабораторной работы:

На каждое занятие назначают 1 дежурного из состава группы

1. Дежурный принимает учебный материал от лаборанта кафедры.
2. Во время лабораторной работы необходимо:
 - 1) содержать рабочее место в образцовом порядке и чистоте;
 - 2) бережно обращаться с микроскопом, посудой, инструментами и другими предметами лабораторного оборудования;
 - 3) проявлять максимальное внимание ко всем этапам работы с культурами микроорганизмов III-IV групп патогенности.
 - 4) если студент случайно разобьет пробирку с микробами или разольет заразный материал («микробиологическая авария»), он обязан сообщить об этом преподавателю и вместе с ним обеззаразить рабочее место. Перед началом работы студент должен ознакомиться с «Мероприятиями на случай аварии при работе с патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности».

Обязанности студентов и дежурных по окончании работы:

1. Привести в порядок рабочее место.
2. Все использованные предметные стекла положить в указанное преподавателем место.
3. Все засеянные пробирки и чашки сдать дежурному для помещения в термостат.
4. Отработанный материал также сдать дежурному для стерилизации.
5. Привести в порядок микроскоп. После проверки преподавателем состояния микроскопа поставить его в шкаф.
6. Обработать руки антисептическим раствором и тщательно вымыть их с мылом.
7. Представить альбом с зарисовками и протокол для подписи преподавателю.
8. Дежурному вменяется в обязанность проверить состояние рабочих столов и устранить дефекты уборки; выключить свет.

I. Этапы приготовления мазков

1. Приготовление мазка из агаровой культуры

- На середину обезжиренного предметного стекла нанести петлей каплю физиологического раствора.
- Внести стерильной петлей в каплю физиологического раствора агаровую культуру.
- Равномерно распределить культуру на предметном стекле в виде круга диаметром 1,5-2 см.
- Простерилизовать петлю в пламени.
- Высушить мазок при комнатной температуре или для ускорения – над пламенем спиртовки.
- Зафиксировать мазок в пламени.
- Окрасить мазок.

- Промыть водой.
- Просушить мазок фильтрованной бумагой.
- Нанести на мазок каплю иммерсионного масла.
- Выполнить микроскопию мазка.

2. Приготовление мазка из бульонной культуры

- На середину обезжиренного предметного стекла нанести стерильной петлей или стерильной пастеровской пипеткой каплю бульонной культуры и равномерно распределить в виде мазка диаметром 1,5-2 см.
- Остальные этапы те же.

ЗАНЯТИЕ №2

ТЕМА: Морфология и ультраструктура прокариотов. Сложные методы окраски

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Освоить теоретический материал по теме занятия.
2. Знать сущность и назначение сложных методов окраски: по Граму, по Бурри-Гинсу, по Ожешко, по Циль-Нильсену, по Нейссеру.
3. Иметь представление о принципе люминесцентной и фазовоконтрастной микроскопии.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Структура бактериальной клетки: обязательные и необязательные компоненты.
2. Методы для изучения морфологии бактерий, их значение.
3. Оболочка бактерий, ее строение. Цитоплазматическая мембрана, ее роль.
4. Строение клеточной стенки у Gr⁺ и Gr⁻ бактерий. Принцип и сущность окраски по Граму. Протопласт, сферопласт, L-формы бактерий.
5. Капсула бактерий, роль. Методы выявления капсул.
6. Споры, условия и механизм образования, значение спорообразования, методы обнаружения спор.
7. Жгутики, строение, роль. Методы изучения подвижности. Пили, их значение.
8. Цитоплазма, включения цитоплазмы, их функции. Методы для обнаружения зерен воллотины.
9. Нуклеоид, роль, методы обнаружения.
10. Принципы фазово-контрастной, темнопольной, люминесцентной микроскопии.
11. Понятие о конфокальной, электронной, атомно-силовой микроскопии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010, стр. 26-35.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 30-35, 18-19.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Приготовление мазков из смеси сарцины и кишечной палочки, окраска по Граму в модификация Синева.
2. Микроскопия демонстрационных мазков с капсульными бактериями, окраска по Бурри-Гинсу.
3. Микроскопия демонстрационных мазков со спорами, окраска по Ожешко.

4. Микроскопия демонстрационных мазков с зернами волютина в дрожжах, окраска по Нейссеру.
5. Зарисовка четырех препаратов.

ПРЕПАРАТ №1

Смесь *E.coli* и *Sarcina flava*

Окраска по Граму

ПРЕПАРАТ №2

Капсула у бактерий

Окраска по Бурри-Гинсу

ПРЕПАРАТ №3

Зерна волютина в дрожжах

Окраска по Нейссеру

ПРЕПАРАТ №4

Споры *Bac. anthracoides*

Окраска по Ожепко

Сложные методы окраски:

I. Окраска по Граму:

1. На фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную карболово-спиртовым раствором генцианового фиолетового и сверху капают несколько капель дистиллированной воды на 1-2 мин.
2. Убирают фильтровальную бумагу и, не промывая водой, наносят раствор Люголя на 1-2 мин.
3. Сливают раствор Люголя и обесцвечивают спиртом – 30 секунд.
4. Тщательно промывают водой.
5. Докрашивают водным раствором фуксина 1-2 мин., промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: Гр(+) бактерии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, Гр(-) бактерии – в розовый.

II. Окраска по Бурри-Гинсу:

1. Каплю взвеси микробов смешивают с каплей туши на обезжиренном стекле и готовят мазок шлифованным краем стекла как мазки крови, высушивают, фиксируют. Наносят водный раствор фуксина на 1-2 мин.
2. Промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: на темном фоне туши видны неокрашенные светлые капсулы, внутри которых – красные бактерии.

III. Окраска по Ожепко:

1. На нефиксированный мазок наносят 0,5% раствор хлористоводородной кислоты и подогревают на пламени горелки в течение 2-3 мин.
2. Кислоту сливают, промывают мазок, просушивают, фиксируют в пламени горелки.
3. Через фильтровальную бумагу наносят карболовый фуксин Циля, подогревают над пламенем горелки до трехкратного появления паров.
4. Снимают бумагу, промывают водой.
5. Обесцвечивают мазок 5% раствором серной кислоты 1-2 мин.
6. Промывают водой.
7. Докрашивают метиленовым синим 3-5 мин.
8. Промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: споры окрашиваются в красный цвет, вегетативные клетки – в синий.

IV. Окраска по Нейссеру:

1. На фиксированный мазок наносят ацетат синьки Нейссера на 2-3 мин.
2. Наносят раствор Люголя на 10-30 секунд.
3. Промывают водой.
4. Докрашивают раствором везувина или хризоидина 0,5-1 мин.

5. Промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: зерна волютина окрашиваются в темно-синий цвет, цитоплазма бактерий – в желто-коричневый.

ЗАНЯТИЕ №3

ТЕМА: *Морфология и ультраструктура прокариотов (спирохеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы). Эукариоты (грибы и простейшие).*

Выделение чистой культуры аэробных бактерий (1 день исследования)

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Продолжить знакомство с морфологией и структурой микроорганизмов.
3. Знать отличия прокариотов и эукариотов.
4. Овладеть техникой посева петлей на чашку с мясопептонным агаром для получения роста отдельных изолированных колоний.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Извитые формы бактерий. Спирохеты, строение, классификация, методы изучения их морфологии.
2. Риккетсии: морфология, структура, особенности физиологии.
3. Хламидии: морфология, структура, циклы развития.
4. Микоплазмы: морфология, особенности строения.
5. Грибы, морфология, строение, классификация.
6. Морфология плесневых грибов.
7. Морфология дрожжевых и дрожжеподобных грибов.
8. Простейшие, строение, классификация.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010, стр. 35-40, 362-363.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, с.22-29.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Изучение и зарисовка демонстрационных препаратов (спирохеты, хламидии, кандиды, плесневые грибы, простейшие).

ПРЕПАРАТ №1

Chlamidia trachomatis

Окраска метиленовым синим

ПРЕПАРАТ №2

Candida albicans

Окраска метиленовым синим

ПРЕПАРАТ №3

Toxoplasma gondii

Окраска по Романовскому-Гимзе

ПРЕПАРАТ №4

Зарисовать один из трёх демонстрационных препаратов грибов - представителей родов *Mucor*, *Aspergillus* или *Penicillium*.

2. Посев смеси микроорганизмов на чашку Петри с МПА для выделения чистой культуры бактерий.
3. Оформление протокола по выделению чистой культуры.

Протокол: выделение чистой культуры микроорганизмов.

День	Материал для исследования	Ход исследования	Результат исследования
1	Смесь микробов	Посев петлей штрихами на чашку Петри с МПА, инкубация в термостате 37 ⁰ С в течение 24 ч.	—

Примечание: протокол заполняется на следующих занятиях по ходу выделения чистой культуры.

ЗАНЯТИЕ №4

ТЕМА: Физиология микроорганизмов. Питание, питательные среды. Рост, размножение, пигментообразование.

Выделение чистой культуры аэробных микробов (2-й день исследования)

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Иметь представление о механизме и способах размножения бактерий, о роли пигментообразования.
3. Уметь охарактеризовать колонию (культуральные свойства).
4. Научиться делать пересев отдельной колонии на скошенный агар.
5. Закрепить практические навыки по приготовлению мазка, простой метод окраски.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Метаболизм бактерий. Голофитный способ питания.
2. Механизмы транспорта питательных веществ у бактерий.
3. Классификация бактерий по типам питания.
4. Питательные среды, требования к ним, классификация питательных сред.
5. Рост и размножение бактерий, культуральные свойства бактерий.
6. Фазы размножения бактериальной популяции на жидкой среде.
7. Пигментообразование у бактерий, условия для этого процесса, классификация и значение пигментов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010, стр. 40-43, 47-49.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, с.39-45.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Продолжение протокола по выделению чистой культуры.

2 день исследования.

Ход исследования:

- 1) осмотр посевов, характеристика колоний (культуральные свойства);
- 2) приготовление мазков из колоний каждого вида, окраска фуксином, микроскопия (морфологические свойства);
- 3) пересев колоний одного вида на скошенный агар.

Продолжение оформления протокола.

ЗАНЯТИЕ №5

ТЕМА: Физиология микроорганизмов. Дыхание. Ферменты бактерий. Выделение чистой культуры аэробных бактерий (3 и 4-й день исследования)

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Иметь представление о биохимической активности бактерий как о дифференциально-диагностическом признаке при определении вида микроорганизма.
3. Уметь сделать заключение о виде выделенной культуры.
4. Знать особенности культивирования анаэробов.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Типы биологического окисления у бактерий. Брожение.
2. Дыхание бактерий, классификация микроорганизмов по типам дыхания.
3. Методы культивирования анаэробов.
4. Ферменты бактерий. Свойства, классификация.
5. Роль и значение ферментов.
6. Определение сахаролитических свойств, состав сред Гисса.
7. Определение протеолитической, каталазной и оксидазной активности бактерий.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010, стр. 43-47.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по мед. микробиологии» А.П. Елинов, стр. 40, 45-50.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

3 день выделения чистой культуры. Ход исследования:

- 1) проверка чистоты культуры, выросшей на скошенном агаре (осмотр посевов, приготовление мазка, окраска по Граму);
- 2) изучение биохимических свойств: посев в планшеты с тест-системой для определения сахаролитической и протеолитической активности;
- 3) определение каталазной активности (проба с H_2O_2).

4 день выделения чистой культуры. Ход исследования:

- 1) учет биохимических свойств.

Лактоза (Л)	Сахароза (С)	Глюкоза (Г)	Мальтоза (М)	Маннит (Мн)	H_2S	Индол

Примечание: В графе "результат" заполнить таблицу при ферментировании углеводов поставить «+», при наличии индола или сероводорода поставить «+».

Заключение:

ЗАНЯТИЕ №6
ТЕМА: Генетика микроорганизмов

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Освоить теоретический материал по теме занятия.
2. Научиться выявлять "S" и "R" формы колоний.
3. Научиться учитывать опыты трансформации и трансдукции.
4. Научиться оценивать опыт по выявлению действия карболовой кислоты на характер роста протей.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Генетический аппарат микроорганизмов.
2. Генотип, фенотип бактерий, виды изменчивости.
3. Фенотипическая изменчивость (примеры).
4. Генетическая изменчивость, ее виды. Мутации, диссоциации.
5. Is-элементы. Транспозоны.
6. Плазмиды, их роль.
7. Рекомбинационная изменчивость. Основные типы рекомбинации.
8. Трансформация.
9. Трансдукция.
10. Конъюгация.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 201, стр. 67-87.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр.59-62.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Протокол: учет демонстрационного опыта трансформации.

День исследования	Материал исследования	Ход исследования	Результат исследования
1	1. ДНК ауксоавтотрофа, способного синтезировать триптофан 2. Реципиент – ауксогетеротроф <i>B. subtilis</i> , не способный синтезировать триптофан 3. Среда без триптофана	Приготовить смыв с реципиентной культуры. По 0,5 мл смыва внести в 2 стерильные пробирки. В пробирку №1 добавить 0,5 мл физраствора (контроль), в пробирку №2 – 0,5 мл ДНК. Инкубация в термостат при 37°C 1 ч. Пересев из обеих пробирок на голодную среду без триптофана	
2		Учет опыта трансформации	

Заключение:

2. Протокол: учет демонстрационного опыта трансдукции.

День исследования	Материал исследования	Ход исследования	Результат исследования
1	1. Бактериофаг, трансдуцирующий способность разлагать лактозу 2. <i>E.coli</i> , штамм, не разлагающий лактозу. 3. Среда Эндо	Приготовить смыв <i>E.coli</i> . По 0,5 мл смыва внести в 2 стерильные пробирки. В пробирку №1 добавить 0,5 мл физ.раствора (контроль). В пробирку №2 добавить 0,5 мл бактериофага. Инкубация в термостате при 37°C 1 ч. Пересев из обеих пробирок на среду Эндо	
2		Учет опыта трансдукции	

Заключение:

3. Протокол: учет демонстрационного опыта модификационной изменчивости *Proteus vulgaris*.

День исследования	Материал исследования	Ход исследования	Результат исследования
1	1. Культура <i>Proteus vulgaris</i> 2. Чашка с МПА 3. Чашка с карболовым агаром	Посев на чашку с простым и карболовым агаром одним штрихом. Инкубация в термостате при 37°C 24 ч.	
2		Учет роста на МПА. Учет роста на карболовом агаре	

Заключение:

4. Демонстрация R- и S-форм колоний.

ЗАНЯТИЕ №7

ТЕМА: Действие физических, химических и биологических факторов на микроорганизмы. Асептика. Антисептика. Дезинфекция. Стерилизация. Экология микроорганизмов. Нормальная микрофлора человека. Санитарно-бактериологическое исследование смыва с рук

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Ознакомиться с основными методами асептики, антисептики, дезинфекции, стерилизации.
3. Научиться брать смыв с рук и проводить санитарно-бактериологическое исследование для оценки санитарного состояния рук. Знать состав среды Кесслера.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Понятие об экологии микроорганизмов. Микробные экосистемы и их компоненты (биоценоз, биотоп, экотар). Виды симбиоза.
2. Антагонизм, его формы.

3. Действие физических факторов на микроорганизмы: температура, высушивание, лучистая энергия, ультразвук.
4. Стерилизация, определение, методы.
5. Антисептика, определение. Классификация антисептиков, требования к ним, механизмы действия.
6. Асептика, виды асептических мероприятий. Дезинфекция. Определение, виды и способы дезинфекции.
7. Микрофлора тела человека, значение. Микрофлора отдельных биотопов тела человека.
8. Дисбактериоз, причины развития. Препараты для лечения дисбактериоза (пробиотики). Профилактика дисбактериоза.
9. Санитарно-показательные микробы, определение, свойства.
10. Санитарно-бактериологическое исследование смыва с рук, цель и методика проведения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010 стр. 100-102, 104-118.
3. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2002, стр. 49-51, 53-68.
4. «Руководство к лабораторным занятиям по мед. микробиологии» А.П. Елинов, стр. 41, 72-74.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Изучение микрофлоры полости рта: приготовление мазка из зубного налета, окраска по Граму, микроскопия, зарисовка.
Для приготовления мазка из зубного налета на обезжиренное стекло петлей нанести кашлю стерильного физиологического раствора, с передней поверхности больших коренных зубов деревянной палочкой взять зубной налет и равномерно распределить его в капле физиологического раствора. Мазок высушить, зафиксировать, окрасить по Граму.

ПРЕПАРАТ №1

Мазок из зубного налета

Окраска по Граму

2. Протокол: санитарно-бактериологическое исследование смыва с рук.

День исследования	Материал для исследования	Ход исследования	Результат исследования
1	Смыв с рук	Взятие смыва с рук стерильной увлажненной салфеткой и посев в среду Кесслера для обнаружения <i>E.coli</i> . Инкубация в термостате 44°C 24 часа.	
2	-	Учет роста на среде Кесслера - (газообразование при 44°C). Пересев на среду Эндо.	
3	-	Учет роста красных колоний на среде Эндо. Приготовление мазка, окраска по Граму, микроскопия. Оксидазный тест.	

Заключение:

Примечание: состав среды Кесслера (МПБ + желчь + лактоза + генцианфиолетовый + поплавок для улавливания газа)

ЗАНЯТИЕ №8

ТЕМА: Микрофлора воздуха, воды, почвы. Санитарно-бактериологическое исследование воды, воздуха. Фитопатогенные бактерии.

Микрофлора лекарственного сырья и готовых лекарственных форм

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме.
2. Освоить методы оценки санитарного состояния воздуха, воды.
3. Ознакомиться с методикой определения микробной загрязненности лекарственного сырья и готовых лекарственных форм.
4. Ознакомиться с методикой определения стерильности лекарственных средств.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Микрофлора воздуха.
2. Показатели санитарного состояния воздуха. Методы определения микробного числа.
3. Микрофлора воды, источники ее загрязнения. Показатели санитарного состояния воды. Определение микробного числа воды.
4. Методы определения общих и термотолерантных колиформных бактерий.
5. Микрофлора почвы, показатели ее санитарного состояния.
6. Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Ризосфера, микориза, роль для растений.
7. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление. Способы заражения растений и пути распространения бактерий в пораженных растениях. Меры борьбы с бактериозами.
8. Источники и причины микробного загрязнения лекарственного растительного сырья и готовых лекарственных средств. Признаки микробной порчи лекарственных форм и меры ее предупреждения.
9. Определение микробной загрязненности лекарственных средств и способы устранения их антимикробного действия.
10. Определение стерильности инъекционных растворов. Пирогены.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010 стр. 102-104, 118-121.
3. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2002, стр. 51-53, 68-71.
4. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 74-86, 87-100.
5. «Микрофлора растений. Фитопатогенные бактерии» Н.В. Железняк, А.В. Фролова 2009.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Разбор методов мембранной фильтрации и титрационного метода для определения общих колиформных и термотолерантных бактерий с использованием демонстрационного материала.
2. Демонстрация седиментационного метода определения микробного числа воздуха.
3. Демонстрация определения стерильности лекарственных средств в системе «стеритест».

4. Протокол: определение микробной обсеменности таблеток.

День	Материал для исследования	Ход исследования	Результат
1	Таблетки	В стерильном физрастворе приготовить три десятикратных разведения экстракта измельченной таблетки (1:10, 1:100, 1:1000). Из последнего разведения взять 0,1 мл и посеять шпательем на чашку с МПА. Инкубация в термостате при 37 ⁰ С 24 ч.	
2		Учет роста, подсчет выросших колоний, определение микробного числа.	

Заключение:

Примечание: при определении микробного числа (количества микробов в 1 мл) полученное число колоний умножить на степень разведения.

ЗАНЯТИЕ №9

ТЕМА: Итоговое занятие по теме «Морфология и физиология микроорганизмов. Санитарная бактериология»

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Международная классификация и таксономия микроорганизмов.
2. Основные морфологические формы бактерий.
3. Методы изучения морфологии и структуры бактерий.
4. Структура бактериальной клетки: обязательные и необязательные компоненты.
5. Методы для изучения морфологии бактерий, их значение.
6. Оболочка бактерий, ее строение. Цитоплазматическая мембрана, ее роль.
7. Строение клеточной стенки у Gr+ и Gr- бактерий. Принцип и сущность окраски по Граму. Протопласт, сферопласт, L-формы бактерий.
8. Капсула бактерий, роль. Методы выявления капсул.
9. Споры, условия и механизм образования, значение спорообразования, методы обнаружения спор.
10. Жгутики, строение, роль. Методы изучения подвижности. Пили, их значение.
11. Цитоплазма, включения цитоплазмы, их функции. Методы для обнаружения зерен волотина.
12. Нуклеоид, роль, методы обнаружения.
13. Принципы фазово-контрастной, темнопольной, люминесцентной микроскопии.
14. Понятие о конфокальной, электронной, атомно-силовой микроскопии.
15. Извитые формы бактерий. Спирохеты, строение, классификация, методы изучения их морфологии.
16. Риккетсии: морфология, структура, особенности физиологии.
17. Хламидии: морфология, структура, циклы развития.
18. Микоплазмы: морфология, особенности строения.
19. Грибы, морфология, строение, классификация.
20. Морфология плесневых грибов.

21. Морфология дрожжевых и дрожжеподобных грибов.
22. Простейшие, строение, классификация.
23. Метаболизм бактерий. Голофитный способ питания.
24. Механизмы транспорта питательных веществ у бактерий.
25. Классификация бактерий по типам питания.
26. Питательные среды, требования к ним, классификация питательных сред.
27. Рост и размножение бактерий, культуральные свойства бактерий.
28. Фазы размножения бактериальной популяции на жидкой среде.
29. Пигментообразование у бактерий, условия для этого процесса, классификация и значение пигментов.
30. Типы биологического окисления у бактерий. Брожение.
31. Дыхание бактерий, классификация микроорганизмов по типам дыхания.
32. Методы культивирования анаэробов.
33. Ферменты бактерий. Свойства, классификация.
34. Роль и значение ферментов.
35. Определение сахаролитических свойств, состав сред Гисса.
36. Определение протеолитической, каталазной и оксидазной активности бактерий.
37. Генетический аппарат микроорганизмов.
38. Генотип, фенотип бактерий, виды изменчивости.
39. Фенотипическая изменчивость (примеры).
40. Генетическая изменчивость, ее виды. Мутации, диссоциации.
41. Is-элементы. Транспозоны.
42. Плазмиды, их роль.
43. Рекомбинационная изменчивость. Основные типы рекомбинации.
44. Трансформация.
45. Трансдукция.
46. Конъюгация.
47. Понятие об экологии микроорганизмов. Микробные экосистемы и их компоненты (биоценоз, биотоп, экovar). Виды симбиоза.
48. Антагонизм, его формы.
49. Действие физических факторов на микроорганизмы: температура, высушивание, лучистая энергия, ультразвук.
50. Стерилизация, определение, методы.
51. Антисептика, определение. Классификация антисептиков, требования к ним, механизмы действия.
52. Асептика, виды асептических мероприятий. Дезинфекция. Определение, виды и способы дезинфекции.
53. Микрофлора тела человека, значение. Микрофлора отдельных биотопов тела человека.
54. Дисбактериоз, причины развития. Препараты для лечения дисбактериоза (пробиотики)
55. Санитарно-показательные микробы, определение, свойства.
56. Санитарно-бактериологическое исследование смыва с рук, цель и методика проведения.
57. Микрофлора воздуха.
58. Показатели санитарного состояния воздуха. Методы определения микробного числа.
59. Микрофлора воды, источники ее загрязнения. Показатели санитарного состояния воды. Определение микробного числа воды.
60. Методы определения общих и термотолерантных колиформных бактерий.
61. Микрофлора почвы, показатели ее санитарного состояния.
62. Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Ризосфера, микориза, роль для растений.

63. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление. Способы заражения растений и пути распространения бактерий в пораженных растениях. Меры борьбы с бактериозами.
64. Источники и причины микробного загрязнения лекарственного растительного сырья и готовых лекарственных средств. Признаки микробной порчи лекарственных форм и меры ее предупреждения.
65. Определение микробной загрязненности лекарственных средств и способы устранения их антимикробного действия.
66. Определение стерильности инъекционных растворов. Пирогены.

ЗАНЯТИЕ №10

**ТЕМА: Структура и функция системы иммунитета. Основные понятия иммунитета. Цитокины и интерлейкины.
Развитие и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов**

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Уметь определить в мазках феномен розеткообразования Т-лимфоцитов с эритроцитами барана.
3. Знать принцип проточной цитометрии для оценки субпопуляции лимфоцитов.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Система иммунитета, подсистемы, центральные и периферические органы.
2. Центральные понятия системы иммунитета: антигены, антитела, рецепторы, цитокины.
3. Определение понятия «иммунитет», феномены иммунитета, «иммунологическая память».
4. Виды иммунитета.
5. Цитокины, общие свойства, классификация.
6. Интерлейкины.
7. CD-молекулы, биологическое и диагностическое значение.
8. Т-лимфоциты, развитие и дифференцировка. Субпопуляции Т-лимфоцитов, их функции.
9. В-лимфоциты, развитие и дифференцировка. Функции В-лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 8-20, 33-34, 40-41.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Демонстрация результатов проточной цитометрии для оценки субпопуляции лимфоцитов.
2. Микроскопия и зарисовка препарата с розеткообразованием.

ПРЕПАРАТ №1

Розеткообразование
Т-лимфоцитов с эритроцитами барана
Окраска по Романовскому-Гимзе

ЗАНЯТИЕ №11

ТЕМА: *Антигены. Антитела. Серологические реакции. Реакция преципитации*

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Знать назначение и уметь ставить и учитывать реакцию кольцепреципитации с целью определения видовой принадлежности белка.
3. Уметь учитывать результаты реакции преципитации в агаре.
4. Уметь учитывать результаты опыта определения токсигенности микроорганизмов по демонстрационным чашкам.
5. Знать методы получения антитоксических и преципитирующих сывороток.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Антигены, определение, свойства, виды. Гаптены.
2. Инфекционные антигены, виды, характеристика.
3. Неинфекционные антигены, виды.
4. Система HLA-антигенов, роль в иммунитете.
5. Иммуноглобулины, определение, структура.
6. Классы иммуноглобулинов, характеристика.
7. Антитела, виды, механизмы действия.
8. Моноклональные антитела, получение, применение
9. Серологические реакции, общая характеристика, назначение.
10. Реакция преципитации, ингредиенты, цель постановки.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 34-40, 42-46, 126-127, 132-133.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр.104-407, 110-111.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

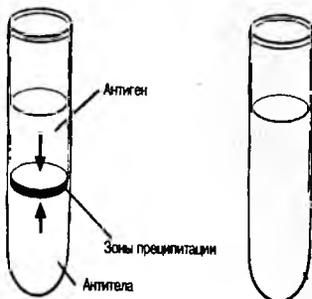
1. Протокол: постановка реакции кольцепреципитации с целью определения видовой принадлежности белка.

Ингредиенты: 1. Вытяжка из пятна крови.

2. Сыворотка, преципитирующая белок человека.

3. Сыворотка, преципитирующая белок курицы.

Ход работы: в пробирку №1 внести пипеткой 1 мл сыворотки, преципитирующей белок человека; осторожно по стенке наклонить такое же количество вытяжки. В пробирку №2 внести сыворотку, преципитирующую белок курицы, и также наклонить исследуемую вытяжку.



Полученный результат зарисовать в альбоме и сделать заключение о виде белка.

2. Демонстрация реакции преципитации в агаре и реакции преципитации в геле для определения токсигенности бактерий.

ЗАНЯТИЕ №12

ТЕМА: *Факторы естественного иммунитета. Фагоциты и фагоцитоз. Система комплемента. Серологические реакции: реакция связывания комплемента*

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Знать назначение, уметь ставить и учитывать результаты реакции связывания комплемента для определения антител в сыворотке больного.
3. Знать назначение реакции гемолиза и ингредиенты этой реакции.
4. Уметь оценить и правильно зарисовать мазки с завершённым и незавершённым фагоцитозом.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Естественный врожденный иммунитет, гуморальные и клеточные факторы.
2. Естественные киллеры.
3. Антигенпредставляющие клетки, их функции.
4. Толл-подобные рецепторы.
5. Система мононуклеарных фагоцитов, функции.
6. Фагоцитоз, стадии, механизмы, виды.
7. Система комплемента, характеристика, пути активации.
8. РСК, ингредиенты, механизм, назначение.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 20-33, 134-135.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 111-113.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Микроскопия и зарисовка мазков с завершённым и незавершённым фагоцитозом.
2. Демонстрация реакции гемолиза.

ЗАНЯТИЕ №13

ТЕМА: Динамика иммунного ответа. Серологические реакции: агглютинации, РПГА, реакция Кумбса, нейтрализации

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Уметь ставить ориентировочную и развернутую реакцию агглютинации с целью определения вида микроба и оценивать результат.
3. Уметь учитывать результат РПГА с целью определения титра антител в сыворотке больного.
4. Знать назначение и способы получения препаратов: диагностикум, агглютинирующая сыворотка, антиоксическая сыворотка, эритроцитарный диагностикум, анатоксин.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Динамика иммунного ответа, неспецифические механизмы защиты.
2. Специфический иммунный ответ на Т-независимые АГ.
3. Специфический иммунный ответ на Т-зависимые АГ, презентация, процессинг, индукция, эффекторная фаза.
4. Иммунный ответ против внутриклеточных микроорганизмов, опухолевых клеток.
5. Механизмы ограничения иммунного ответа.
6. Первичный и вторичный иммунный ответ.
7. Реакция агглютинации: ингредиенты, ее виды, назначение.
8. РПГА, ингредиенты, назначение.
9. Реакция Кумбса, ингредиенты, назначение.
10. Реакция нейтрализации: виды, ингредиенты, назначение.

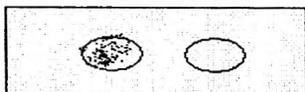
ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 47-66, 127-132, 135-136.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 106-110, 113.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Протокол: постановка реакции агглютинации для определения вида микроба.

- а) Ориентировочная реакция агглютинации на стекле.
Ингредиенты: 1. Неизвестная культура микроорганизма.
2. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка *E.coli* 1:5.
3. Физиологический раствор.



Зарисовать полученный результат и сделать заключение.

б). Учет демонстрационной развернутой реакции агглютинации для определения вида микроба.

Ингредиенты	Разведения диагностической сыворотки					
	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16000	К
	1	2	3	4	5	6
Физ. раствор	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Агглютинирующая сыворотка 1:500 <i>E.coli</i>	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0 →	1,0	-
Исследуемая культура	по 3 капли во все пробирки					
	Термостат 37°C 18-20 часов					
Результат:						

Заключение:

*Примечание: агглютинирующая сыворотка разводится до титра, указанного на этикетке. Титр сыворотки *E.coli* – 1:16000.*

2. Протокол: учет РИГА для определения титра антител в сыворотке пациента.

Ингредиенты	Разведения сыворотки больного				
	1:20	1:40	1:80	1:160	К
	1	2	3	4	5
Физ. раствор	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Сыворотка пациента 1:10	0,1 →	0,1 →	0,1 →	0,1	-
Диагностический эритроцитарный	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Результат					

Заключение:

ЗАНЯТИЕ №14

ТЕМА: Оценка иммунного статуса. Серологические реакции: ИФА, РИА, РИФ, иммуноблотинг. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Уметь по демонстрационным препаратам проводить учет реакции бласттрансформации.
3. Уметь учитывать результаты иммуноферментного анализа для выявления иммуноглобулина Е.
4. Уметь оценивать по готовым препаратам результаты НСТ-теста.
5. Знать препараты для иммунопрофилактики и иммунотерапии.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Иммунодиагностика, методы иммунодиагностики. Иммунный статус, общая характеристика.
2. Характеристика Т-лимфоцитов, методы оценки.
3. Характеристика В-лимфоцитов, методы оценки.
4. Характеристика системы гранулоцитов и моноцитов. Методы оценки. НСТ-тест. Характеристика системы комплемента.
5. РИФ, виды, ингредиенты.
6. ИФА, ингредиенты, цель постановки, учет реакции.
7. РИА, цель применения, ингредиенты.
8. Иммуноблоттинг.
9. Вакцины, виды, цель применения.
10. Серотерапия и серопрофилактика. Иммунные антисыворотки и иммуноглобулины. Терапевтические моноклональные антитела.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 119-125, 136-141, 143-157.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 115-123.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Учет ИФА для определения антител в сыворотке пациента с помощью фотометра универсального Ф300.
2. Разбор биопрепаратов: агглютинирующая брюшнотифозная сыворотка, антигистаминная противодифтерийная сыворотка, сыворотка преципитирующая белок человека, брюшнотифозный Vi-диагностикум, эритроцитарный диагностикум, брюшнотифозная люминесцирующая сыворотка, антиглобулиновая люминесцирующая сыворотка, столбчатый анагосин, АКДС, БЦЖ, иммуноглобулин против сибирской язвы.

ЗАНЯТИЕ №15

ТЕМА: *иммунопатология. Иммунодефициты. Аллергия. Аллергены. Кожно-аллергические пробы. Аутоиммунные заболевания. Противоопухолевый иммунитет, иммунитет в «системе мать-плод»*

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Иметь представление об аллергических реакциях и способах выявления сенсibilизации организма.
3. Уметь учитывать результаты ИФА для обнаружения антител класса IgE при аллергии.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Иммунопатология. Виды иммунопатологии, эндогенные и экзогенные причины иммунопатологии.
2. Аллергия, определение, общая характеристика. Стадии развития аллергии. Типы аллергических реакций по Геллу-Кумбсу.
3. Реакции повышенной чувствительности немедленного типа, виды. Анафилактический тип аллергических реакций.

4. Цитотоксические, иммунокомплексные, антирецепторные реакции. Аллергические и аутоиммунные заболевания, развивающиеся по этим механизмам.
5. Реакции повышенной чувствительности замедленного типа, механизм, примеры.
6. Кожно-аллергические пробы, использование их в диагностике. Аллергены для кожно-аллергических проб, получение, применение.
7. Иммунодефициты, виды, причины.
8. Особенности противоопухолевого иммунитета. Особенности иммунитета в системе «мать-плод».

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007, стр. 79-106, 112-115, 117-118, 142.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 121.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Учет ИФА для обнаружения антител класса IgE при аллергии.
2. Разбор биопрепаратов: туберкулин, бруцеллин, тулярия.

ЗАНЯТИЕ №16

ТЕМА: Итоговое занятие по иммунологии

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал занятий № 10-15.
2. Знать препараты для диагностики, иммунопрофилактики и иммунотерапии.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Система иммунитета, подсистемы, центральные и периферические органы.
2. Центральные понятия системы иммунитета: антигены, антитела, рецепторы, цитокины.
3. Определение понятия «иммунитет», феномены иммунитета, «иммунологическая память».
4. Виды иммунитета.
5. Цитокины, общие свойства, классификация.
6. Интерлейкины.
7. CD- молекулы, биологическое и диагностическое значение.
8. Т-лимфоциты, развитие и дифференцировка. Субпопуляции Т-лимфоцитов, их функции.
9. В-лимфоциты, развитие и дифференцировка. Функции В-лимфоцитов.
10. Антигены, определение, свойства, виды. Гаптены.
11. Инфекционные антигены, виды, характеристика.
12. Неинфекционные антигены, виды.
13. Система HLA-антигенов, роль в иммунитете.
14. Иммуноглобулины, определение, свойства, структура.
15. Классы иммуноглобулинов, характеристика.
16. Антитела, виды, механизмы действия.
17. Моноклональные антитела, получение, применение.
18. Серологические реакции, общая характеристика, назначение.

19. Реакция преципитации, ингредиенты, цель постановки.
20. Естественный врожденный иммунитет, гуморальные и клеточные факторы.
21. Естественные киллеры.
22. Антигенпредставляющие клетки, их функции.
23. Толл-подобные рецепторы.
24. Система мононуклеарных фагоцитов, функции.
25. Фагоцитоз, стадии, механизмы, виды.
26. Система комплемента, характеристика, пути активации.
27. РСК, ингредиенты, механизм, назначение.
28. Динамика иммунного ответа, неспецифические механизмы защиты.
29. Специфический иммунный ответ на Т-независимые АГ.
30. Специфический иммунный ответ на Т-зависимые АГ, презентация, процессинг, индукция, эффекторная фаза.
31. Иммунный ответ против внутриклеточных микроорганизмов, опухолевых клеток.
32. Механизмы ограничения иммунного ответа.
33. Первичный и вторичный иммунный ответ.
34. Реакция агглютинации: ингредиенты, ее виды, назначение.
35. РПГА, ингредиенты, назначение.
36. Реакция Кумбса, ингредиенты, назначение.
37. Реакция нейтрализации: виды, ингредиенты, назначение.
38. Иммунодиагностика, методы иммунодиагностики. Иммунный статус, общая характеристика.
39. Характеристика Т-лимфоцитов, методы оценки.
40. Характеристика В-лимфоцитов, методы оценки.
41. Характеристика системы гранулоцитов и моноцитов. Методы оценки. НСТ-тест. Характеристика системы комплемента.
42. РИФ, виды, ингредиенты.
43. ИФА, ингредиенты, цель постановки, учет реакции.
44. РИА, цель применения, ингредиенты.
45. Иммуноблоттинг.
46. Вакцины, виды, цель применения.
47. Серотерапия и серопрофилактика. Иммунные анτισыворотки и иммуноглобулины. Терапевтические моноклональные антитела.
48. Иммунопатология. Виды иммунопатологии, эндогенные и экзогенные причины иммунопатологии.
49. Аллергия, определение, общая характеристика. Стадии развития аллергии. Типы аллергических реакций по Геллу-Кумбсу.
50. Реакции повышенной чувствительности немедленного типа, виды. Анафилактический тип аллергических реакций.
51. Цитотоксические, иммунокомплексные, антирецепторные реакции. Аллергические и аутоиммунные заболевания, развивающиеся по этим механизмам.
52. Реакции повышенной чувствительности замедленного типа, механизм, примеры.
53. Кожно-аллергические пробы, использование их в диагностике. Аллергены для кожно-аллергических проб, получение, применение.
54. Иммунодефициты, виды, причины.
55. Особенности противоопухолевого иммунитета. Особенности иммунитета в системе «мать-плод».

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. «Основы иммунологии» Д.К.Новиков, И.И. Генералов, Н.В. Железняк, 2007.

Биопрепараты: агглютинирующая брюшнотифозная сыворотка, антиоксическая противодифтерийная сыворотка, сыворотка предпитирующая белок человека, брюшнотифозный Vi-диагностикум, эритроцитарный диагностикум, брюшнотифозная люминесцирующая сыворотка, антиглобулиновая люминесцирующая сыворотка, столбнячный анатоксин, АКДС, БЦЖ, иммуноглобулин против сибирской язвы.

ЗАНЯТИЕ №17

ТЕМА: Химиотерапия. Антибиотики.

Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Знать теоретический материал по теме занятия.
2. Овладеть методикой определения чувствительности микробов к антибиотикам дискодиффузионным методом.
3. Научиться оценивать чувствительность микробов к антибиотикам методом серийных разведений в бульоне и агаре по демонстрационному материалу.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Антимикробные средства. Химиотерапия. Характер действия химиотерапевтических препаратов. Химиотерапевтический индекс.
2. Антибиотики. Определение, требования к антибиотикам.
3. Классификация антибиотиков: по происхождению, по химической структуре, по спектру действия.
4. Классификация антибиотиков по механизму действия.
5. Побочные реакции антимикробных препаратов.
6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, критерии чувствительности (МИК, МБК).
7. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам диффузионными методами.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом серийных разведений.
9. Механизмы развития лекарственной устойчивости. Пути преодоления резистентности микроорганизмов к лекарственным препаратам.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2002, стр. 102-1119.
3. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 124-132.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Протокол: определение чувствительности стафилококка к антибиотикам дискодиффузионным методом.

День исследования	Материал исследования	Ход исследования	Результат
1	Культура <i>S.aureus</i> $5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл.	Посев 1 мл культуры на чашку Петри с МПА сплошным газоном. На поверхность МПА пинцетом поместить диски с антибиотиками.	
2		Измерение диаметра (в мм) зоны задержки роста культуры стафилококка вокруг дисков.	Антибиотики: 1. 2. 3. 4. 5.

Заключение:

Примечание: в заключении отметить степень чувствительности S.aureus к антибиотикам, исходя из следующих критериев:

- зона задержки до 10 мм – культура устойчива к антибиотику
- зона задержки 11-15 мм – культура малочувствительна к антибиотику
- зона задержки 16-25 мм – культура чувствительна к антибиотику
- зона задержки больше 25 мм – культура высокочувствительна к антибиотику.

2. Протокол: определение чувствительности *E.coli* к доксициклину методом серийных разведений.

Ингредиенты	Окончательная концентрация антибиотика, мкг/мл					
	64	32	16	8	4	К
Мясо-пептонный бульон	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Доксициклин	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-
Исследуемая культура <i>E.coli</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Результат:	Термостат 37°C 24 ч					

Заключение:

3. Демонстрация Е-теста.

4. Демонстрация тест-систем для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

ЗАНЯТИЕ №18

ТЕМА: Инфекция. Роль микро- и макроорганизма в развитии инфекционного процесса. Патогенность, вирулентность.

Формы взаимодействия микро- и макроорганизма. Виды инфекций

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ЗАНЯТИЯ:

1. Освоить теоретический материал по теме занятия.
2. Знать сущность биологического метода исследования.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ:

1. Инфекционный процесс, условия для возникновения. Инфекционная болезнь, носительство.
2. Классификация патогенных микробов (патогенные, условно-патогенные, сапрофиты).
3. Патогенность, вирулентность, определение, единицы измерения.
4. Методы усиления и ослабления вирулентности.
5. Факторы патогенности: адгезины, факторы агрессии и инвазии.
6. Экзотоксины, свойства, механизмы действия. Получение анатоксинов.
7. Эндотоксин, свойства.
8. Эпидемический процесс. Источники инфекции. Механизмы и пути передачи инфекций.
9. Формы эпидемического процесса (спорадическая, вспышка, эпидемия, пандемия, эндемия).
10. Пути и способы проникновения патогенных микробов в организм. Входные ворота инфекции.
11. Особенности инфекционных болезней. Периоды развития инфекционного заболевания.
12. Формы инфекционных болезней и инфекционного процесса: по длительности течения, по происхождению, по проявлениям. Реинфекция, суперинфекция, рецидив, смешанные инфекции, вторичная инфекция. Бактерионосительство.
13. Виды инфекционных болезней по локализации патологического процесса (очаговые, генерализованные). Бактериemia, вирусемия, септицемия или сепсис, септикопиемия, токсемия.
14. Внутрибольничные (госпитальные) инфекции, причины их возникновения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лекционный материал.
2. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2003, 2010 стр. 87, 137-152.
3. Учебник «Медицинская микробиология» под редакцией проф. Д.К. Новикова, проф. И.И. Генералова, 2002, стр. 120-135.
4. «Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии» Н.П. Елинов, стр. 100-104.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА:

1. Учесть результаты биологического метода исследования:
 - а) микроскопия мазков-отпечатков из органов трупа белой мыши после внутрибрюшинного заражения культурой *K. pneumoniae*;
 - б) учет посевов из органов погибшей мыши на чашке Петри с МПА.

Библиотека ВГМУ



Учебное издание

Генералов Игорь Иванович
Железняк Наталья Васильевна
Фролова Аэлига Валерьевна и др.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОБЩЕЙ МИКРОБИОЛОГИИ
ДЛЯ СТУДЕНТОВ II КУРСА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**
Методические указания

Редактор И.И. Генералов
Технический редактор И.А. Борисов
Компьютерная верстка А.К. Гайлит
Корректор Н.В. Железняк

Подписано в печать *18.02.15г.*
Формат бумаги 64х84 1/16 Бумага типографская №2.
Гарнитура ТАЙМС. Усл. печ. листов *163*. Уч.-изд. л. *175*
Тираж *230* экз. Заказ № *79*.

Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Витебский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013 г.
Пр. Фрунзе, 27, 210602, г. Витебск