Министерство здравоохранения Амурской области

Государственное автономное учреждение Амурской области

профессиональная образовательная организация

«Амурский медицинский колледж»

**Учебное пособие для самоподготовки студентов**

**МДК 4. 01. «Теория и практика микробиологических исследований»**

**Специальность: 31.02.03 «Лабораторная диагностика»**

 **Квалификация: « Медицинский лабораторный техник»**

Курс: 4

Семестр: 7

Количество часов 101.

Практика 78.

Внеаудиторная работа: 23.

2014 г.

|  |  |
| --- | --- |
| Рассмотрено на ЦМК«Лабораторня диагностика»«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_2014 г\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Подпись\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Маятникова Н.И. |   **«Утверждаю»** Экспертный совет при информационно-методи ческом центре АМК «\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 200\_\_\_ г \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  |

Учебное пособие составлено преподавателем первой квалификационной категории Кудрявцевой Валентиной Ивановной в соответствии с ФГОС СПО по дисциплине « Теория и практика микробиологических исследований»

Рассмотрено на ЦМК «Лабораторная диагностика» и рекомендовано к использованию по специальности 31.02.03 на практических занятиях « Теория и практика микробиологических исследований»

**Содержание**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ занятия** | **Наименование разделов и тем** | **Количество****часов** |
| Занятие №1 | **Тема**: Проведение микробиологической диагностики микоплазмозов и хламидиозов. | 6 |
| Занятие №2 | **Тема**: Проведение микробиологической диагностики актиномикозов и накордиозов. | 6 |
| Занятие №3 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики риккетсиозов. | 6 |
| Занятие №4 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики чумы и туляремии. | 6 |
| Занятие №5 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики сибирской язвы. | 6 |
| Занятие№6 | **Тема**: Проведение микробиологической диагностики псевдотуберкулёза. | 6 |
| Занятие №7 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики бруцеллёза. | 6 |
| Занятие №8 | **Тема**: Проведение микробиологической диагностики легионеллёзов. | 6 |
| Занятие № 9 | **Тема:** Проведение вирусологической диагностики вирусных инфекций. Индикация и идентификация вирусов. | 6 |
| Занятие № 10 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики ДНК – вирусных инфекций. | 6 |
| Занятие № 11 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики РНК – вирусных инфекций. | 6 |
| Занятие № 12 | **Тема:** Проведение вирусологической диагностики простого и опоясывающего герпеса. | 6 |
| Занятие № 13 | **Тема:** Проведение микробиологической диагностики ВИЧ - инфекции | 6 |

**Пояснительная записка.**

 Учебное пособие предназначено для использования на практических занятиях по дисциплине: МДК 4. 01. « Теория и практика микробиологических исследований, 4 курс 7 семестр.

Цикл состоит из 13 занятий, после изучения которых проводится дифференцированный зачёт.

 **Разделы:**

1. Бактерии – внутриклеточные паразиты. Проведение микробиологической диагностики.

2. Поведение микробиологической диагностики особо опасных инфекций.

3. Вирусология.

**После изучения названных разделов студенты должны:**

**Знать:**

* морфологию, культуральные свойства возбудителей риккетсиозов, актиномикозов, нокардиозов, чумы, туляремии, псевдотуберкулёза, сибирской язвы и др. бактерий.
* морфологию, классификацию и культивирование вирусов.
* методы микробиологической диагностики изучаемых инфекционных заболеваний.
* - принципы постановки серологических реакций, омпоненты к ним.
* технику безопасности при работе с инфицированным материалом.

**Уметь:**

* забирать инфицированный материал при названных инфекциях в зависимости от локализации процесса,
* проводить микробиологическую диагностику названных заболеваний поэтапно (микроскопия, бактериологический, серологический, биологический методы исследования).
* соблюдать технику безопасности при работе с инфицированным материалом,
* решать производственные и ситуационные задачи по изученным темам.

**Медицинский лабораторный техник должен обладать общими компетенциями, включающими в себя способность (по базовой подготовке**):

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях и нести за них ответственность.

ОК 4. Осуществлять поиск и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профес-сиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться
с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 7. Брать ответственность за работу членов команды (подчиненных), за результат выполнения заданий.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий
в профессиональной деятельности.

ОК 10. Бережно относиться к историческому наследию и культурным традициям народа, уважать социальные, культурные и религиозные различия.

 ОК 11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности.

ОК 14. Вести здоровый образ жизни, заниматься физической культурой и спортом для укрепления здоровья, достижения жизненных и профессиональных целей.

ОК 15. Исполнять воинскую обязанность, в том числе с применением полученных профессиональных знаний (для юношей).

Медицинский лабораторный техник должен обладать профессиональными компетенциями, соответствующими основным видам профессиональной деятельности (по базовой подготовке):

Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований.

ПК 4.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.

ПК 4.2. Проводить лабораторные микробиологические и иммунологические исследования биологических материалов, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов; участвовать в контроле качества.

ПК 4.3. Регистрировать результаты проведенных исследований.

ПК 4.4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**Занятие № 1**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики микоплазмозов и хламидиозов.**

**Цель**: научиться диагностировать заболевания, вызываемые хламидиями и микоплазмами.

**Тип занятия**: практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

 - зарисовать схему микробиологической диагностики микоплазмозов;

 - зарисовать схему микробиологической диагностики хламидиозов;.

 - закрепить умения приготовления мазков – отпечатков,

**Планируемые результаты:**

**Знать:**

 - что такое микоплазмоз,

 - что такое хламидиоз,

 - пути передачи этих инфекций, источники заражения,

 - терминологию;

**Уметь**:

 - соблюдать ТБ при заборе биоматериала,

 - проводить микробиологическую диагностику микоплазмозов и хламидиозов,
- готовить мазки – отпечатки.

 - ставить серологические реакции для диагностики микоплазмозов и хламидиозов,
 - работать с учебной и справочной литературой.
 - решать ситуационные задачи.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: хламидии, микоплазмы M.pneumoniae, ВОЗ, уреоплазма.

**Мотивация:** По статистике ежегодно хламидиозом в мире заболевает 100 млн. человек, а число инфицированных хламидиями людей на всем земном шаре по самым скромным подсчётам достигает одного миллиарда. По данным [ВОЗ](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%9E%D0%97) и многочисленных отечественных и зарубежных исследователей, урогенитальный хламидиоз является одним из самых распространённых заболеваний, передаваемых

половым путём, поэтому серьёзную проблему для современной венерологии представляет поиск максимально эффективных средств лечения так называемых негонококковых воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы. По разным данным, от 5 до 15 % молодых сексуально активных людей поражены хламидийной инфекцией. У пациентов дерматовенерологических диспансеров Российской Федерации данная инфекция встречается в 2—3 раза чаще, чем [гонорея](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D1%80%D0%B5%D1%8F). Частота негонококковых воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы в 5—6 раз превышает таковую у гонореи, их инкубационный период более длительный, клинические проявления менее выражены, чаще возникают осложнения, среди возбудителей преобладают хламидии. Широкое распространение хламидийной инфекции связано, прежде всего, с бессимптомным течением заболевания.

 **Микоплазмоз** - инфекция обладает лишь условной опасностью для организма человека. Потому выявление данного микроорганизма при исследовании не означает выявление заболевания.

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:** **Хламидии** - прокариоты, внутриклеточные паразиты. Полная зависимость от клетки хозяина обусловлена неспособностью хламидий синтезировать АТФ, это как бы "энергетические паразиты". По мор­фологии это мелкие грамотрицательные кокковидные микроорганизмы. Цикл развития хламидии: элементарные тельца - ретикулярные тель­ца - деление - элементарные тельца - совершается в тече­ние 40-72 часов.
 Химический состав хламидий сложный: они содержат ДНК и РНК, белки, липиды, углеводы. Имеют два вида антигенов: термостабиль­ные групповые, общие для всех хламидий, и термолабильные.
Хламидии вызывают острые и хронические болезни человека, мле­копитающих, птиц.

**Урогенитальный хламидиоз** вызывается Chlamidia trachomatis и является в настоящее время самым частым заболеванием, передающимся половым путем, значительное труднее поддается лечению, бывает ассоциирована с другими заболеваниями, передающимися половым путем (гонококки, трихомонады, вирус простого герпеса и др.).

Возбудитель хламидиоза - уникальный микроорганизм. Хламидии обитают внутри живой клетки, подобно вирусу, но по своему строению скорее напоминают бактерии.
Причины заболевания: заражение хламидиозом обычно происходит половым путём, однако передача происходит не во всех случаях: во время полового контакта хламидиозом заражается 1 из 4. Имеют значение половые контакты любого рода: вагинальный, оральный или анальный. Женщины более восприимчивы к хламидиозу. Также возможен контактно-бытовой путь передачи. Дети могут заразиться хламидиозом при прохождении через инфицированные родовые пути, а также внутриутробно.

Инкубационный период (время от заражения до появления первых симптомов) составляет 2-3 недели.
Симптомы: пациенты могут жаловаться на выделения из уретры (мужчины), влагалища (женщины) белого, желтого цвета или прозрачные. От нормальных выделений они могут отличаться [неприятным запахом](http://health.mail.ru/disease/nepriyatnyi_zapah_ot_tela/)  или желтоватым оттенком. Иногда возникает болезненность, жжение при мочеиспускании или половом акте, покраснения и зуд у наружного отверстия мочеиспускательного канала.

При развитии осложнений больные жалуются на боли в области промежности, мошонки, прямой кишки, женщин беспокоят боли внизу живота, в области поясницы.

Хламидиоз отличается от многих других инфекций, передающихся половым путем тем, что он поражает не только половые органы, но и нижние отделы мочевыделительной системы. Клиническая картина часто стертая, заболевание в хронической форме, то в этом случае симптомы вообще практически отсутствуют.

Микоплазмоз: Женщины, особенно девочки, могут заразиться непрямым путем, при пользовании в быту простынями, полотенцами, нижним бельем, мочалками и другими предметами личной гигиены. В случаях несоблюдения норм стерилизации в медицинских учреждениях инфекция может быть занесена инструментарием, использующимся в гинекологических и урологических кабинетах. Такие случаи встречаются редко и, обычно, человек становится носителем микоплазм, но при этом не болеет микоплазмозом. Основным путем заражения данным заболеванием является половой контакт без использования презервативов. Существует риск внутриутробного инфицирования плода, но вероятность его, как правило, невелика, т.к. плацентарная оболочка надежно защищает плод от попадания инфекции. В случаях, когда мать является носителем инфекции, заражение новорожденного микоплазмозом может произойти при прохождении через родовые пути. Наличие микоплазм у беременных особенно чревато негативными последствиями. У беременных женщин микоплазмы встречаются довольно часто и приводят к различным заболеваниям урогенитального тракта и к поражению плода на разных стадиях его развития. Это, в свою очередь, приводит к непроизвольному аборту или формированию внутриутробной инфекции. Данные болезнетворные бактерии также могут изменять хромосомный аппарат клеток, что приводит к нарушениям эмбрионального развития с возникновением морфологических аномалий и пороков развития. Уреаплазмы, являющиеся подвидом микоплазмы, верхних отделов генитальной области может привести к воспалительным процессам, ведущим к нарушениям репродуктивной функции организма. Они могут стать причиной самопроизвольных абортов и бесплодия, как у женщин, так и у мужчин. Уреаплазмы выявляются у женщин, страдающих от бесплодия, в цервикальном канале. У мужчин уреаплазмы отрицательно влияют на подвижность сперматозоидов, что приводит к невозможности иметь детей. Микоплазмы – внутриклеточные микробы. В медицинской классификации занимают промежуточное положение между бактериями, грибами и вирусами. Паразитируя на клетках других организмов, получают из них основные питательные вещества. Обычно обитают на слизистых кишечного, дыхательного и мочеполового трактов.

Микоплазмы могут вызвать инфекционно-воспалительные процессы, такие как воспалительные заболевания горла, бронхит, пиелонефрит, уретрит, простатит, артрит, сепсис, патологии беременности и плода, послеродовый эндометрит. Обладая змеевидной формой, микоплазма прикрепляется к клеткам эпителия и нарушает их работу, как бы вклиниваясь между ними. Во внешней среде эти микроорганизмы быстро гибнут, т. к. не имеют клеточной оболочки. Если у пациента обнаружен воспалительный процесс урогенитальной системы, то в 7 случаях из 10 обнаружится наличие болезнетворных бактерий в анализе больного. Симптомы генитального микоплазмоза очень схожи с симптомами других заболеваний, передающихся половым путем.

**II. Самостоятельная работа студентов.**

**Оснащение занятия:**

1.Бульонная культура бактерий,

2.Среды для культивирования микоплазм .

3.Куриные эмбрионы.

4. Компоненты для постановки серологических реакций.

5. Бактериологические петли, спиртовки.

6. Микроскопы.

7. Люминесцирующие сыворотки к микоплазмам.

8. Методические указания для самоподготовки студентов.

9. Электронные презентации.

**Задание №1**

**Записать в таблицу способы забора материала при хламидиозах:**

|  |  |
| --- | --- |
| 1. Соскоб со слизистых
 |  |
| 1. Сперма от мужчин
 |  |
| 1. Кровь
 |  |
| 1. Моча
 |  |

Д иагностика хламидиоза сложна, поскольку Chlamydia trachomatis - внутриклеточный паразит.

**Задание № 2**

**Записать методику постановки полимеразной цепной реакции.**

Одним из самых современных методов молекулярной биологии является метод ПЦР диагностики – полимеразная цепная реакция.  Теоретически **метод ПЦР диагностики** позволяет обнаружить даже единственную копию чужеродной ДНК в образце, что позволяет говорить об отсутствии у него предела чувствительности, имеет абсолютную специфичность, то есть если метод ПЦР диагностики выполнен правильно, то он не дает ложноположительных результатов. Метод ПЦР диагностики позволяет в минимальной пробе определить наличие возбудителя болезни и начать лечение своевременно.

Материалом для проведения исследований методом ПЦР служат, как правило, биологические жидкости и выделения организма: кровь, моча, слюна, мокрота. Анализ крови для исследования методом ПЦР берется обычно натощак. Хорошие результаты дает метод ПЦР диагностики и при изучении соскобов эпителиальных клеток слизистой оболочки уретры и цервикального канала. Этот анализ лучше всего провести по истечении 24 часов после полового акта.

**Задание № 3**

**Записать в протокольную тетрадь методику микробиологической** **диагностики микоплазмозов. Составить схему**.

1. Прямой вариант МФА с констрактированием фона.
2. Приготовить микропрепараты из нативного исследуемого материала, фиксировать в ацетоне 10 минут, окрашивать 10 – 15 минут при 37 гр. люминесцирующим глобулином М. пневмония, или уреаплазма во влажной камере.

**Задание № 4**

**Приготовить микропрепарат из материала с возбудителями хламидиоза, изучить морфологию. Зарисовать.**

**Алгоритм действия:**

1. Мазок готовить из нативного материала по общепринятой методике.
2. Фиксировать в ацетоне 10 – 15 минут.
3. Окрасить по методу Гимзы.
4. Микроскопировать под иммерсионной системой.

**Планируемые результаты**: хламидии окрашиваются в фиолетовый цвет, располагаются внутри клеток и внеклеточно. Имеют вид круглых или овальных образований ( ретикулярные и элементарные тельца).

|  |
| --- |
| **III. Закрепление:****Ответить на вопросы**:1. Расскажите, какой материал исследуется на микоплазменную инфекцию.2. Расскажите, какой материап исследуется на хламидийную инфекцию.3. Перечислите питательные среды для культивирования микоплазм.4. Поясните, что такое перевиваемые культуры.5. Составьте алгоритм действия пересева микоплазм с агарового блока в жидкую питательную среду.6. Назовите различия и общие свойства для микоплазм и хламидий. 7. Расскажите о морфологии хламидий. 8. Проследите общие особенности хламидий и микоплазм.9. Перечислите заболевания, вызываемые хламидиями.10. Поясните, почему хламидиозы трудно поддаются лечению.11.Расскажите о цикле развития и размножения хламидий.12. Перечислите питательные среды для культивирования хламидий.13. Поясните, почему микоплазмы плохо растут на искусственных питательных средах?14. Расскажите о культивировании хламидий.  |

**Провести тестирование:**

|  |  |
| --- | --- |
| 1. Морфология миколлазм | а) грамотрицательные, подвижные, образуют споры,б) грамположительные, неподвижные, полиморыные,в) грамотрицательные, неподвижные, полиморфные. |
| 2. Отличие микоплазм от других бактерий | а) образование спор,б) отсуствие клеточной стенки,в) наличие капсулы |
| 1. Културальные свойства микоплазм
 | а) растут на МПА,б) растут на средах Гисса,в) растут на средах с добавлением дрожжевого экстракта и нативной сыворотки. |
| 4. Колонии микоплазм на питательных средах: | а) крупные, шероховатые,б) мелкие, с уплотнением в центре и прорастанием в среду,в) мелкие, гладкие, с металлическим блеском. |
| 5. При росте микоплазм на сывороточном бульоне:  | а) не даёт помутнения,б) образуется помутнение и резкий запах, в) образуется помутнение и пристеночный рост. |
| 6. Микоплазмы окрашиваотся по методу: | а) Грама,б) Бурри – Гинса,в) Ожешко. |
| 7. Заболевания, вызыва-емые микоплазмами: | а) ОРЗ и пневмония,б) сердечно – сосудистые заболевания, в) оба варианта верны. |
| 8. Источником инфек-ции при микоплазмозах являютя: | а) вода открытых водоёмов,б) больной человек,в) млекопитающиеся. |
| 9. Материал для иссле-дования при микоплазмозах: | а) моча,кровь, испражнения,б) мокрота, мазок из зева, смывы из носоглотки,в) сенивеальная жидкость, отделяемое из уретры и влагалища. |
| 10. Способы размноже-ния микоплазм: | а) поперечное деление,б) митоз,в) спорами. |

**Задание на дом**:

* заполнить схему алгоритмов «Характеристика хламидий и микоплазм»

Повторить: микробы – внутриклеточные паразиты.

**Литература**: протокол практического занятия № 1,

 К.Ф. Черкесс, микробиология, стр. 46 – 53; стр. 221- 227.

**Занятие № 2**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики актиномикозов и нокардиозов.**

**Цель:** научиться диагностировать заболевания, вызываемые актиномицетами и нокардиями.

**Тип занятия**:

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

 **-** готовить микропрепараты,

 - развести исследуемую и контрольную сыворотку;

 - зарисовать схему микобиологической диагностики нокардиозов и актиномикозов;

 - зарисовать схему заражения куриного эмбриона.

**Планируемые результаты:**

**Знать:**

 - морфологические и культуральные своства возбудителей;

 - принципы микробиологической диагностики;

 - заболевания, вызываемые данной группой возбудителей.

 - терминологию;

**Уметь:**

 - учитывать результат реакции;

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**:

нокардии, актиномицеты, саптикопиемия, пневмония, абсцесс мозга, друзы, лимфогенный и геиатогенный путь передачи.

**Мотивация:** Морфология актиномицетов сходна с микробактериями туберкулеза (кислотоустойчивы, образуют мицелий, который легко септируется, при этом образуются кокковидные и бациллярные формы различной длины. Могут образовывать ветвящиеся формы, палочки с булавовидным утолщением на одном конце, цепочки палочек различной длины. Неподвижны. Капсул не имеют. Поэтому важно провести идентификацию этих заболеваний.

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:**

Нокардиоз - острое или хроническое, нередко септикопеимическое заболевание внутренних органов (легких, кожи, подкожной клетчатки и слизистых покровов, поражение костей и образование свищей. Заболевание впервые описано Э. Нокардом в 1888г. у быка, а в1890г. Эппингер описал плевропневмонию с абсцессом мозга у человека. Заболевание сходно с актиномикозом или туберкулезом, но не образует в тканях зерен и друз. По классификации Берги род Nocardia вместе с 19 другими родами выделен в самостоятельную группу нокардиоморфных актиномицетов. Наиболее часто возбудителем является Nocardia asteroids.

 Культуральные свойства: аэробы, хорошо растут на простых средах, но рост медленный. Оптимум температуры 37 градусов, pH - 6,8-7,2. Колония восковидные, образуют пигмент (водонерастворимый от желтого до оранжево-красного цвета. На поверхности колонии может быть белесый мицелий. Размножаются бинарным делением или путем образования артроспор, возникающих при фрагментации нитей. Различные виды нокардий отличаются друг от друга биохимическими свойствами (гидролиз казеина, желатина, свертывание и пептонизация молока, ферментация углеводов и т.д. Все нокардии образуют уреазу. У нокардии есть несколько общих антигенов с микобактериями. Факторами патогенности являются белковые и полисахаридные компоненты клеточной стенки и миколовая кислота. Резистентность - нокардии устойчивы во внешней средеи к прямым солнечным лучам, поэтому в почве сохраняются длительное время.

 **Эпидемиология:**

в России нокардиозы встречаются редко, часто регистрируются в странах тропического и субтропического климата. Естественная среда обитания нокардий - почва, где они и размножаются. Путь заражения - аэрогенный (через пыль), реже - алиментарный (при употреблении сырого молока больных животных; через поврежденные слизистые покровы и кожу (при попадании зараженной нокардиями почвы).

**Патогенез и клиника**:

 входные ворота инфекции - слизистая оболочка дыхательных путей, кишечника, коньюктивы глаза, раны. Нокардиоз обычно развивается на фоне понижения резистентности организма (хроническое заболевание крови, онкологических процессах, длительном лечении кортикостероидами, иммунодепрессантами, противоопухолевыми антибиотиками. Обычно нокардиоз начинается как легочная инфекция, для которой характерно появление мелких бугорков, напоминающие туберкулезные. Затем процесс может развиваться местно (каверны, абсцессы, свищи) или происходит распространение возбудителя по организму лимфогенным или гематогенным путем (абсцессы мозга, почек и др. органов). Иммунитет: - нестерильный, носит клеточный характер.

**Актиномицеты** также, как и нокардий, способны образовать мицелий. Сходны с туберкулезными палочками по морфологии, но в отличие от нокардий, являются факультативными анаэробами. Длительное время актиномицеты классифицировали как грибы, но изучение морфологии позволило отнести их к бактериям (отсутствие четко выделенного ядра, чувствительность к бактериофагам и антибиотикам и т. д.). Род образует тонкие, слегка изогнутые палочки, часто образуют нити и мицелий. Палочковидные формы способны к ветвлению. Актиномицеты входят в состав микрофлоры полости рта и ЖКТ, поэтому рассматриваются как условно-патогенные. Типовой вид - Actinomyces bovis. Заболевания, вызываемые ими обозначают термином "актиномикозы". Первое описание поражений у человека привел Израэль (1878г. ). Актиномикозы регистрируются практически во всех странах мира; больные составляют 2,5-10% всех пациентов с хроническими гнойными процессами различной локализации; мужчины болеют в 2 раза чаще, чем женщины.

 **Предрасполагающие факторы:**

 - травмы ротовой полости;

 - периодонтиты;

 - различные манипуляции осложнения после операций;

 - осенне-зимний период года, что связано с ростом простудных заболеваний, обеспечивающих благоприятный фон для развития актиномикозов. 10% - 20% поражений составляет торокальный актиномикоз (поражение легких и плевры).

**II этап - самостоятельная работа студентов:**

**Оснащение занятия:**

1. Набор красителей по Граму
2. Набор пробирок
3. Стерильные пипетки
4. Физраствор

 5. Красители по Романовскому - Гимзе

 6. Методические указания для студентов

 7. Микротаблицы

-"Лабораторная диагностика нокардиозов"

-"Лабораторная диагностика актиномикозов"

 8. Электронные презентации:

 - Нокардиозы

 - Актиномикозы

**Задание №1**

**Заполнить таблицу.**

|  |  |
| --- | --- |
| **Материал** | **Способы взятия** |
| 1. Гной (из свищей)2. Гной (из абсцессов)3. Мокрота.4.Ликвор |  |

**Задание№2**

1. Из предложенной культуры приготовить микропрепарат, окрасить по Граму; промикроскопировать, зарисовать.

 2. Определить по морфологическим признакам вид культуры (предположительно),

**Планируемые результаты**: обнаружение в микропрепарате друз (скоплений) A.Israelii в эксудате или гнойном отделяемом из очагов поражения (тельца Боляингера или серные гранулы размер 0,3-2 мм.) указывают на наличие актиномицетов.

**Задание № 3**

**Зарисовать схему лабораторной диагностики нокардиозов**.

**Задание № 4**

**Зарисовать схему лабораторной диагностики актиномикозов**.

**Задание № 5**

**Записать в протокольную тетрадь сходства и различия в диагностике нокардиозов и актиномикозов, пользуясь схемами и методическими указаниями.**

**III. Закрепление:**

**Ответить на вопросы**:

1. Расскажите о морфологических признаках нокардий,
2. Охарактеризуйте культурные свойства нокардий,
3. Назовите заболевания, вызываемые нокардиями. вызываемые нокардиями,
4. Расскажите, какой материал и как забирается для микробиологической диагностике нокардиозов. Основные методы лабораторной диагностики нокардиозов,
5. Назовите морфологические и культурные свойства актиномицетов,
6. Поясните, по каким признакам актиномицеты относят к бактериям,
7. Назовите Заболевание, вызываемые актиномицетами,
8. Перечислите материал для исследования при актиномикозах,
9. Назовите методы лабораторной диагностики актиномикозов.

**Ответить на вопросы « тестовой лестницы»:**

**Задание 1**

1. Нокардиоз – острое или хроническое заболевание внутренних органов (да, нет).

2. Нокардии размножаются бинарным делением (да, нет).

3. Нокардии являются анаэробами (да, нет).

**Задание № 2**

**1. Среды для культивирования нокардий:**

 а) МПА.

 б) МПБ,

 в) среды с добавлением биологических жидкостей,

 г) среды с пенициллином.

**Задание №3**

1. **Выберете правильный ответ:**

 **Входные ворота инфекции при нокардиозе:**

 а) слизистые оболочки дыхательных путей,

 б) слизистые кишечника и коньюктивы глаз,

 в) слизистая ротовой полости.

**Задание № 4**

**1. Нокардии устойчивы во внешней среде, поэтому**:

а) длительно сохраняются в почве,

б) длительно сохраняются в воде,

в) оба варианта верны.

**Задание № 5**

а) Путь заражения нокардиями\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, реже\_\_\_\_\_.

б) Актиномицеты в отличие от нокардий явлются\_\_\_\_\_\_\_анаэробами.

**Задание № 6**

От больного 30 лет, у которого диагностировали бронхит, из мокроты, посеянной на простую среду выросли восковидные колонии с оранжево- красным пигментом. На поверхности колоний белый мицелий.

1. О каком микробе идёт речь?

2. Перечислите заболевания, вызываемые этим микробом.

**Домашнее задание**: повторить « Морфология риккетсий», «Микробы – внутриклеточные паразиты» »Серологическая диагностика инфекционных заболеваний».

**Литература:** К. Ф. Черкесс, микробиология стр. 37-38

Н. В. Прозоркина, учебное пособие по микробиологии стр. 15-22

**Занятие № 3**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики риккетсиозов**.

**Цель**: научиться диагностировать заболевания, вызываемые риккетсиями.

**Тип зантия**: практическое и элементами УИРС.

**Задачи:** - раститровать исследуемую сыворотку,

**Планируемые результаты**:

**Знать:**

 - что такое риккесии,

 - особенности культивирования риккетсий,

 - технику постановки РА с риккетсионным диагностикумом,

 - понятие «диагностический титр»

 - заболевания, вызываемые риккетсиями,

 - терминологию;

**Уметь:**

 - готовить ингредиенты для РА,

 - соблюдать ТБ при постановке РА,

 - ставить реакцию,

 - учитывать результат реакции

 - работать с учебной и справочной литературой,

 - решать производственные задачи.

**Дидактическая база занятия**:

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: риккетсии, сыпной тиф, аэробы, внутриклеточные паразиты, перевиваемые ткани и клетки, болезнь Брилла, эпидемический блошиный тиф, риккетсии Провачека.

**Мотивация:** В 1910 г. американские исследователи Риккетс и Вильнер, изучая этиологию мексиканского сыпного тифа, в крови больных и кишечнике вшей обнаружили своеобразных грамотрицательных микробов, имеющих форму кокков или коккобацилл, которые не росли на обычных питательных средах. Аналогичные микроорганизмы были обнаружены в 1913 г. чешскими учеными Провачеком и Хеглером в кишечнике вшей, снятых с больных европейским сыпным тифом. В дальнейшем было установлено, что подобного рода микроорганизмы довольно широко встречаются в природе, их удается обнаружить у людей и при других заболеваниях, сходных по клинической картине с сыпным тифом. Эти микроорганизмы довольно часто обнаруживаются в организме кровососущих членистоногих (клещей, вшей и блох), а также у различных грызунов и при ряде заболеваний у диких и домашних животных. В честь Риккетса, погибшего во время экспериментов от сыпного тифа, эти микроорганизмы названы риккетсиями.

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:**

**Рикк**е**тсии,** мелкие болезнетворные бактерии, размножающиеся только в клетках хозяина; названы по имени американского учёного Х. Т. Риккетса (Н. Т. Ricketts; 1871—1910), нашедшего в 1909 возбудителя пятнистой лихорадки Скалистых гор. Риккетсии - короткие, с закруглёнными концами палочки (0,3- 0,3—2 мкм), располагающиеся одиночно или парами; неспороносные, неподвижны, грамотрицательны, размножаются поперечным делением..

 риккетсиями. Риккетсии занимают промежуточное положение между бактериями и вирусами: по морфологии и величине риккетсии не отличаются от грамотрицательных бактерий, но, подобно вирусам, являются внутриклеточными паразитами и не растут на искусственных питательных средах. В настоящее время насчитывается более 32 видов риккетсий, из них 11 видов, патогенных для человека.

 Морфология. По форме и размерам риккетсии представляют довольно разнообразную группу. П. Ф. Здродовский выделяет четыре формы или типа риккетсий: 1тип а — кокковидные формы. Они образуют форму гимнастических гирь, в которых отдельные шарики соединяются промежуточным т мостиком. Окрашиваются равномерно.
2 тип в - палочковидные формы. Имеют форму коротких палочек. При окраске по методу Романовского в теле риккетсий наблюдаются два мелких хроматиновых тельца.
3 тип с- бациллярные формы. Имеют форму длинных изогнутых палочек с наличием у них внутри протоплазмы двух, а иногда и четырех полюсно расположенных зернышек, более крупных размеров, чем у палочковидных форм.
4 тип d, или нитевидные мицеллярные формы Длинные, разнообразно изогнутые нити с наличием большого количества зерен.

Риккетсиоз – это инфекционное заболевание животных и человека, вызванное риккетсиями, то есть распространяется через кровососущих насекомых разносчиков инфекции.

**Риккетсиоз у человека бывает в следующих формах:**
 - вшивый, или эпидемический, сыпной тиф, а также болезнь Брилла

- его рецидивная форма;

 - крысиный (блошиный), или эндемический, [сыпной тиф](http://www.24farm.ru/parazitologiya/sipnoi_tif/);
- средиземноморская, или марсельская, лихорадка;

 - клещевой [сыпной тиф](http://www.24farm.ru/parazitologiya/sipnoi_tif/) Северной Азии, или [клещевой риккетсиоз](http://www.24farm.ru/parazitologiya/kleschevoj_rikketsioz/);
 - клещевой североавстралийский [сыпной тиф](http://www.24farm.ru/parazitologiya/sipnoi_tif/);

 - везикулезный и [осповидный риккетсиоз](http://www.24farm.ru/parazitologiya/ospovidnij_rikketsioz/);

 - японскаяречная [лихорадка цуцугамуши](http://www.24farm.ru/parazitologiya/lihoradka_cucugamuschi/);

 - [Ку-лихорадка](http://www.24farm.ru/parazitologiya/ku_lihoradka/);

 - волынская траншейная (окопная) лихорадка, или пятидневная лихорадка;

 - пароксизмальный [клещевой риккетсиоз](http://www.24farm.ru/parazitologiya/kleschevoj_rikketsioz/).

|  |
| --- |
|  |

## Симптомы риккетсиозов:

У людей риккетсиоз проявляется в виде лихорадочных заболеваний различных по тяжести. У некоторых видов риккетсиозов инфицирование сопровождается характерной сыпью.
         Инфицирование блошиным сыпным тифом происходит вследствие попадания зараженных фекалий блох на открытые раны и поврежденные кожные покровы, такие как расчесы. Инкубационный период заболевания в этом случае составляет от 5 до 15 суток. Характерным признаком блошиного [сыпного тифа](http://www.24farm.ru/parazitologiya/sipnoi_tif/) является появления на кожных покровах сыпи ярко-розового цвета. Сыпь появляется, как правило, на 4-5-е сутки заболевания и проявляется не только на туловище или конечностях, но так же и на лице. Симптомы схожи с вшивым сыпным тифом, но заболевание протекает намного легче.
         Васкулезный риккетсиоз характеризуется инкубационным периодом от одной до двух недель. Примерно за неделю до возникновения лихорадки на месте укуса клеща появляется характерное уплотнение с пузырьком в центре, который со временем покрывается черным струпом, и зоной гиперемии (элементами сыпи, на которые при высыхании образуются темные корочки) вокруг него.
При заболевании пароксизмальным риккетсиозом инкубационный период составляет от 7 до 10 суток. Симптомами этого вида риккетсиоза являются рецидивы лихорадки. А уплотнения, возникающие на месте укуса инфицированного клеща, и сыпь, как правило, для пароксизмального риккетсиоза не характерны.

|  |
| --- |
|  |

## Пути передачи инфекции:

Заражение риккетсиозом наступает после укусов клещей, или попадания в открытые раны, а также на слизистые оболочки, зараженных фекалий блох и вшей. В ряде случаев риккетсиоз может распространяться через мочу, молоки или фекалии инфицированных животных. Резервуаром для инфекции для большинства видов риккетсиоза выступают животные, как правило, дикие, в особенности грызуны, так как у них болезнь развивается бессимптомно. От инфицированных животных заражаются кровососущие насекомые и становятся переносчиками заболевания.
     Помимо этого для большинства видов риккетсиозов резервуарами инфекции могут выступать и клещи, для которых характерна передача инфекции из поколения в поколение (трансовариальная передача риккетсиоза). Природная очаговость большинства видов риккетсиоза обуславливается наличием в природе резервуаров инфекции. Резервуаром для ряда видов заболевания, к примеру, для вшивого [сыпного тифа](http://www.24farm.ru/parazitologiya/sipnoi_tif/), является человек.

**II Самостоятельная работа студентов.**

**Оснащение занятия**

 1. Шприцы,

2. Материал для заражения куриных эмбрионов,

3. Спирт, вата,

4. Ингридиенты для реакции агглютинации,

5. Ингридиенты для РСК.

6. Фиксаторы,

7. Куриные эмбрионы,

8. Фиксаторы,

9. Краситель Романовского

**Задание № 1**

1. **Поставить реакцию Вейля – Феликса**

Это реакция агглютинации, основанная на способности сыворотки пациентов, страдающими различными риккетсиозами, агглютинировать некоторые штаммы протея (т.е. в качестве антигена можно взять культуру протея). Поставить развёрнутую реакцию агглютинации по общепринятой методике. Инкубировать в термостате 2 часа.

1. **Планируемые результаты**: при положительном результате в опытных пробирках наблюдается агглютинат (взвесь или осадок хлопьев на дне пробирки.

**Задание №2**

1. **Поставить реакцию связывания комплемента**

 В реакции принимает участие 2 системы: АГ+АТ ( рабочая) и индикаторная (гемолитическая сыворотка + эритроциты барана). Реакция идёт только в присуствии комплемента.

1. **Алгоритм действия**: РСК можно ставить в лунки специального планшета или в пробирки.

**Необходимые ингридиенты:**

сыворотка больного, антиген, комплемент, физраствор,гемолитическая система.

**Ингридиенты использовать в следующей последовательности**:

1. Сыворотка больного (исследуемая),
2. Антиген,
3. Комплемент инкубации
4. Гемолитическая система,
5. Инкубация в термостате 45 мин.

**Планируемые результаты**: Если в сыворотке больного есть антитела (т.е. реакция положительная), то комплемент расходуется на связывание рабочей системы. На связывание гемолитической системы комплемента не остаётся. Значит, эритроциты барана осядут на дно пробирки или планшета.

Если система АГ + АТ не срабатывает ( антиген не соответствует антителу, то комплент расходуется на связывание индикаторной системы, а значит, происходит гемолиз эритроцитов 9 лаковая кровь) – реакция отрицательная.

**Задание № 3**

**Заполнить таблицу**:

|  |  |
| --- | --- |
| **Материал** |  **Способы забора** |
| Кровь (можно сгустки) |  |
| Переносчики (вши, блохи) |  |
| Секционный материал |  |

**Задание № 4**

**Изучить морфологию риккетсий**

 **Алгоритм действия**:

1. Приготовить микропрепарат из предложенной преподавателем культуры.
2. Фиксировать микропрепарат в жидком красителе.
3. Окрасить микропрепарат по Романовскому Гимза. (опустить препарат на 30 – 40 сек. в краситель.
4. Промыть в стакане с буферным раствором 30 сек.Тщательно высушить, микроскопировать.

**Планируемые результаты**: если в культуре есть риккетсии, то видны грамотрицательные мелкие полиморфные палочки или кокковидные бактерии.

**Задание № 5**

**Составть схему микробиологической диагностики риккетсиозов**

|  |  |
| --- | --- |
| 1 этап |  |
| 2 этап |  |
| 3 этап |  |
| результат |  |

**III. Закрепление:**

**Ответить на вопрсы:**

1. Расскажите об истории окрытия риккетсий.
2. Поясните о положении риккетсий в мире микробов.
3. Расскажите о морфологии риккетсий.
4. Охарактеризуйте пути передачи риккетсиозов.
5. Пасскажите о классификации риккетсиозовпо источнику и переносчикам заболеваний.
6. Расскажите об особенностях культивирования риккетсий.
7. Охарактеризуйте понятие « перевиваемые культуры»
8. Охарактеризуйте серологические методы диагностики риккетсиозов.
9. Расскажите о поэтапной диагностике риккетсиозов..
10. Раскройте понятие « гемокультура»
11. Расскажите о методике посева крови на гемокультуру.
12. Почему заболевания с скптическими проявлениями называются тифозными?
13. Что такое реакция Вейль – Феликса и где она используется?
14. Почему в качестве АГ при серологической диагностике сыпного тифа можно использовать культуру протея.
15. Какие заболевания вызывают риккетсии?
16. Титр сыворотки.
17. Диагностический титр сыворотки.

**Решение ситуационных задач** (сборник прилагается)

IVДомашнее задание: повторить «Техника безопасности при работе с материалом при особо опасных инфекциях». Составить по 5 тестов по разделу « Риккетсии».

**VЛитература**: протокол практического занятия №3

 К.Ф Черкесс, микробиология, стр. 14 – 17; стр. 207 – 213.

**Занятие № 4**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики чумы и туляремии.**

**Цель**: научиться диагностировать чуму и туляремию;

**Задачи:**

 - зарисовать схему микробиологической диагностики чумы,

 - зарисовать схему микробиологической диагностики туляремии,

**Планируемые результаты:**

 **Знать:**

 - технику безопасности при заборе биоматериала и работе с материалом особо опасных инфекций,

 - формы заболевания и пути заражения чумой,

 - формы заболевания и пути заражения туляремией ,

 - зарисовать схему микробиологической диагностики чумы

 - зарисовать схему микробиологической диагностики туляремии,

**Уметь:**

* забирать материал при ООИ;
* заражать лабораторных животных;
* работать с учебной и справочной литературой.
* решать производственные задачи,
* пользоваться противочумным костюмом.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Тип занятия**: практическое и элементами УИРС

**Вводимые понятия**: тулярин, биологическая ловушка, бубон, сепсис, Trancisella tularensis, Yersiniya pestis

**Мотивация**: Чума и туляремия – тяжелые острые инфекционные заболева-ния, вызываемые бактериями рода Иерсиния (чума) и Франсиссела (туляре-мия). Относится к особо опасным и карантинным инфекциям, являются трансмиссивным зоонозами, вызывают заболевания человека и животных.

**1 этап теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь**

Морфология возбудителей чумы (Yersiniya pestis) - грамотрицательные палочки овоидной формы, неподвижные, образуют нежную капсулу (непостоянно). Молодые культуры окрашиваются биполярно. Оптимальная температура роста -28° С (20-40° рН -6,9-7,0.).

Культуральные свойства: неприхотливы к питательным средам. На плотных средах формируются шероховатые колонии, напоминающие смятый кружевной платочек. В жидких средах образуют пленку на поверхности, от которой ко дну тянутся слизистые нити; в последующем образуется осадок.

Патогенез и клиника: источник заболевания - животные (грызуны, крупный рогатый скот и др.) и больной человек. В зависимости от входных ворот инфекции различают:

1. Бубонная форма;
2. Легочная форма;
3. Кишечная форма;
4. Септическая (первичная) форма;
5. Септическая (вторичная) форма.

Клиника чумы довольно характерна, но бактериологическая диагностика

обязательна во всех случаях с целью:

1. Установления диагноза заболевания у человека и проверка эффективности лечения;

 2. Выявление инфицированности животных и переносчиков возбудителя и природных очагах;

 3.Установление зараженности объектов внешней среды.

**Внимание!** Первый случай заболевания человека чумой должен быть обязательно подтвержден бактериологически.

**Туляремия** - острое или хроническое системное природно-очаговое заболевание человека и животных. Возбудитель Trancisella tularensis -грамотрицательные палочки или кокки, в мазках, окрашенных по Романовскому - Гимзе выявляется нежная капсула. Возбудитель туляремии прихотливк питательным средам: растет на свернутой яичной среде (Мак-Коя и Чепина) - 48-72 часа и кровяноцистеиновой среде, также культивируется в желточном мешке куриного эмбриона. Заболевание относится к ООИ, имеет те же формы, что и чума, но протекает гораздо легче.

Больной человек не является источником инфекции, поэтому туляремия не дает больших эпидемий среди людей.

У больных туляремией начиная со второй недели, обнаруживается повышенная чувствительность к туляремийному антигену, которая сохраняется у переболевших в течение ряда лет. Поэтому можно пользоваться кожной аллергической реакцией как для диагноза, существующего заболевания, так как и для его ретроспективного диагноза в эпидемиологической практике.

**II. Самостоятельная работа студентов**

**Оснащение занятия:**

1. Демонстрационный материал (противочумный костюм, готовые микропрепараты чумы и туляремии, приготовленные из непатогенных штаммов, аллергический препарат тулярин);
2. Сыворотка больного туляремией;
3. Туляремийный диагностикум;
4. Физраствор, набор пробирок, пипетки, спиртовки,
5. Микроскопы
6. Электронные презентации «Чума», «Туляремия»

**Задание №1**

**Записать методику постановки аллергической пробы при диагностике туляремии.**

Антигеном для кожной пробы служит аллерген тулярин, который вводится внутрикожно в нижнюю часть предплечья в количестве 0,1 мл /Результат учитывают через 48 часов по появлению отека и гиперемии в случае положительного результата.

**Задание №2**

**Поставить реакция агглютинации с сывороткой больного туляремией**

**Алгоритм действия**: начиная со второй недели болезни, можно ставить реакцию агглютинации с сывороткой больного. Антигеном служит взвесь убитых формалином туляремийных микробов. Реакция ставится; по общепринятой схеме. Результаты учитываются после 2 часов стояния в термостате и 18-20 часов при комнатной температуре.

**Внимание:** РА ставится в разведении сыворотки от 1:25 до 1:400 и с коммерческим диагностикумом, разведенным в 5 раз физраствором. Диагностический титр 1: 100.

**Планируемые результаты**: появление хлопьев или придонного осадка в пробирках не менее разведения 1:100 указывает на положительный результат.

**Задание № 3**

**Записать биологический метод диагностики туляремии**

Биологический метод - применяется в специальных лабораториях. Для биопробы используют белых мышей и морских свинок. Мышам материал вводят подкожно, морским свинкам - внутрибрюшинно. Животные погибают на 3-6 сутки.

Бактериологический метод в диагностике человека редко дает положительные результаты, поэтому взятую от больного культуру накапливают на восприимчивых животных. Затем культуру выделяют желточно - агаровой среде (мелкие колонии молочно - белого цвета).

 При идентификации туляремийной культуры основными тестами являются:

* морфология и окраска;
* отсутствие роста культуры на МПА;
* РА с гомологичной сывороткой.

**Задание №4**

**После демонстрации преподавателем зарисовать противочумный костюм.**

**Задание № 5**

**Изучить морфологию чумных бактерий**

Промикроскопировать под иммерсионной системой микропрепараты с бактериями чумы (искать грамотрицательные овоидные палочки, окрашенные биполярно (по полюсам). Зарисовать.

**Задание № 6**

**Изучить морфологию туляремийных бактерий.**

Промикроскопировать готовый микропрепарат с туляремийными бактериями (искать грамотрицательные, очень мелкие палочки, часто овоидной формы). Зарисовать.

**Задание № 7**

**Ознакомиться со схемами микробиологической диагностики чумы и туляремии:**

Зарисовать, отметить этапы исследования.

**Задание № 8**

**Записать в протокольную тетрадь материал для исследования при подозрении на чумы или туляремию.**

 **От больного**: кровь, мокрота, содержимое бубона,

 **От трупа:** - содержимое бубона, кровь; регионарный лимфатический узел; кусочки печени, селезенки, легкого.

**1. II этап - вопросы для закрепления:**

1. Расскажите, какие инфекционные заболевания относятся к ООИ?

2. Назовите мероприятия по технике безопасности при работе с материалом, подозрительным на ООИ;

3. Назовите причины, по которым чума даёт борльшие эпидемии, а туляремия нет.

4. Название яичную среду для культивирования возбудителей туляремии;

 5.Назовите возбудителя, относящегося к первой группе особо опасных инфекций. В каких формах может протекать заболевание?

 6. При окраске возбцдители чумы, а иногда и туляремии окрашиваются

 7. Назовите источники заражения чумой;

 8. Назовите источники заражения туляремией
9. Расскажите о серологическом методе диагностики туляремии;

10. Назовите метод микробиологической диагностики с применением лабораторных животных;

11. Назовите препарат для аллергической диагностики туляремии.

12. Расскажите, как устроен противочумный костюм.

**III Задание на дом:**

Составить конспект: «Техника безопасности при работе с материалом при подозрении на ООИ».

**IV Литература:** протокол практического занятия №4,

 К.Ф Черкесс, микробиология, стр. 22 - 32 стр230 – 239. 213.

**Занятие № 5**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики сибирской язвы.**

**Цель:**

 изучить микробиологическую диагностику сибирской язвы.

**Тип занятия**:

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи**:

- зарисовать схему микробиологической диагностики сибирской язвы,

 - ознакомиться со средствами защиты при работе с ООИ,

 - изучить схему постановки реакции Асколи.

**Планируемые результаты**:

**Знать:**

 - что такое особо опасные инфекции
 - что такое преципитирующая сыворотка, её назначении
 - технику безопасности при работе
 - терминологию;

**Уметь:**

 - готовить ингридиенты для реакции Асколи,

 - соблюдать ТБ при проведении забора и работе с материалом;

 - ставить реакцию Асколи,

 - учитывать результат реакции

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: бацилла, спора, антраксин.

|  |
| --- |
| **Мотивация**: сибирская язва (карбункул злокачественный, антракс) — особо опасная инфекционная болезнь сельскохозяйственных и диких животных всех видов, а также человека. Болезнь протекает молниеносно, сверхостро, остро и подостро (у овец и крупного рогатого скота), остро, подостро и ангинозно (у свиней), преимущественно в карбункулёзной форме — у человека.  |

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:**

**Морфология:** Возбудитель сибирской язвы — бацилла антрацис (Bacillus anthracis). Она представляет собой крупную спорообразующую грамположительную палочку размером 5—10 × 1—1,5 мкм. Бациллы сибирской язвы хорошо растут на мясопептонных средах, содержат капсульный и соматический антигены и способны выделять экзотоксин, представляющий собой белковый комплекс. Сибиреязвенная бактерия вне организма при доступе кислорода воздуха образует споры, вследствие чего обладает большой устойчивостью к высокой температуре, высушиванию и дезинфицирующим веществам. Споры могут сохраняться годами; пастбище, заражённое испражнениями и мочой больных животных, может долгие годы сохранять сибиреязвенные споры. Вегетативные формы сибиреязвенной палочки быстро погибают при кипячении и воздействии обычных дезинфектантов. При автоклавировании споры при температуре 110 °C гибнут лишь через 40 мин. Сухой жар при температуре 140 °C убивает споры через 2,5—3 ч. Прямые солнечные лучи споры сибирской язвы выдерживают в течение 10—15 суток. Спороцидным действием обладают также активированные растворы хлорамина, горячего формальдегида, перекиси водорода.

**Сибирская язва у животных характеризуется следующими особенностями:**

1. короткий инкубационный период, обычно не превышающий 3—4 дня,
2. выраженная клиника в виде тяжёлого лихорадочного состояния, упадка сердечно-сосудистой деятельности, менингеальных явлений, кровавой диареи и рвоты;
3. стремительное развитие инфекционного процесса, заканчивающегося гибелью животных в течение, как правило, первых 2—3 суток.

Крупный рогатый скот и лошади: как правило, протекает остро и подостро. Характеризуется: (септическая форма) резким повышением температуры, апатией, снижением продуктивности, отеками головы, шеи и подгрудка (кишечная форма) апатия, отказ от корма, кровавая диарея и рвота, тимпания. Свиньи:(ангинозная форма) встречается только у свиней и протекает бессимптомно; изменения можно обнаружить только при ветеринарно-санитарной экспертизе туш по характерному катарально-геморрагическому воспалению лимфатических узлов. Эпизоотии сибирской язвы территориально привязаны к почвенным очагам — хранилищам возбудителей. Первичные почвенные очаги образуются в результате непосредственного инфицирования почвы выделениями больных животных на пастбищах, в местах стойлового содержания животных, в местах захоронения трупов (скотомогильники) и т. п. Вторичные почвенные очаги возникают путём смыва и заноса спор на новые территории дождевыми, талыми и сточными водами. Заражение может произойти при участии большого числа факторов передачи. К ним относятся выделения и шкуры больных животных, их внутренние органы, мясные и другие пищевые продукты, почва, вода, воздух, предметы внешней среды, обсеменённые сибиреязвенными спорами. Восприимчивость к сибирской язве у человека не зависит от возрастных, половых и других физиологических особенностей организма; она связана с путями заражения и величиной инфицирующей дозы.

Воротами инфекции для сибирской язвы обычно является повреждённая кожа. В редких случаях бацилла внедряется через слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. На месте внедрения возбудителя в кожу возникает сибиреязвенный карбункул в виде очага серозно-геморрагического воспаления с некрозом, отёком прилегающих тканей и регионарным лимфаденитом. Местный патологический процесс обусловлен действиемэкзотоксина сибиреязвенной палочки, отдельные компоненты которого вызывают выраженные нарушения микроциркуляции, отёк тканей и коагуляционный некроз.

Вне зависимости от входных ворот инфекции первая стадия представляет собой локализованное поражение регионарных лимфатических узлов, вторая стадия — генерализацию процесса.

Генерализация инфекции с прорывом возбудителей сибирской язвы в кровь и развитием септической формы происходит при кожной форме сибирской язвы чрезвычайно редко.

Сибиреязвенный сепсис обычно развивается при внедрении возбудителя через слизистые оболочки дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта. В этих случаях нарушение барьерной функции трахеобронхиальных или мезентериальных лимфатических узлов приводит к генерализации процесса. Бактериемия и токсинемия могут явиться причиной развитияинфекционно-токсического шока.

В основе патогенеза лежит действие экзотоксина возбудителя, который состоит, по крайней мере, из трёх компонентов или факторов:

- первого (I), эдематозного (воспалительного) фактора;

- второго (II), протективного (защитного) фактора;

- третьего (III), летального фактора.

 Морфологической сущностью сибиреязвенного сепсиса является острое серозно-геморрагическое, геморрагическое, реже — фибринозно-геморрагическое воспаление. Лейкоцитарная реакция в очагах воспаления при сепсисе выражена слабо или отсутствует. В органах иммуногенеза (селезёнка, лимфоузлы, вилочковая железа) имеется подавление иммунной защиты организма с замещением лимфоидной ткани макрофагами и наличие примитивной защитной реакции в виде макрофагального незавершенного фагоцитоза возбудителя.

Продолжительность инкубационного периода колеблется от нескольких часов до дней, чаще всего составляет 2—3 дня. Заболевание может протекать в локализованной (кожной и висцеральной) или генерализованной (септической) форме.

Кожная форма сибирской язвы встречается в 98—99 % всех случаев сибирской язвы. Наиболее частой её разновидностью является карбункулёзная форма, реже встречаются эдематозная, буллёзная и [эризипелоидная](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D1%80%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BF%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%B8%D0%B4%22%20%5Co%20%22%D0%AD%D1%80%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BF%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%B8%D0%B4) формы заболевания. Поражаются преимущественно открытые части тела; особенно тяжело протекает болезнь при локализации карбункулов на голове, шее, слизистых оболочках рта и носа.

Обычно карбункул бывает один, но иногда их количество доходит до 10—20 и более. На месте входных ворот инфекции последовательно развивается пятно, папула, везикула, язва. Безболезненное пятно красновато-синего цвета и диаметром 1—3 мм, имеющее сходство со следом от укуса насекомого, через несколько часов переходит в папулу медно-красного цвета. Нарастает зуд и ощущение жжения. Через 12—24 ч. папула превращается в пузырёк диаметром 2—3 мм, заполненный жидкостью, которая темнеет и становится кровянистой. При расчёсывании (иногда и самопроизвольно) пузырёк лопается, и на его месте образуется язва с тёмно-коричневым дном, приподнятыми краями и серозно-геморрагическим отделяемым. Через сутки язва достигает 8—15 мм в диаметре. В результате некроза центральная часть язвы через 1—2 недели превращается в чёрный безболезненный плотный струп, вокруг которого имеется выраженный воспалительный валик красного цвета. Внешне струп напоминает уголёк в пламени, что и послужило поводом для названия этой болезни (Antrax - уголь). Это поражение и получило название карбункула. Характеризуется интоксикацией, развитием серозно-геморрагического воспаления кожи, лимфатических узлов и внутренних органов; протекает в кожной или септической форме (также у животных встречаются кишечная и лёгочная формы). Источником инфекции являются больные сельскохозяйственные животные: крупный рогатый скот, лошади, ослы, овцы, козы, олени, верблюды, у которых болезнь протекает в генерализованной форме. Домашние животные — кошки, собаки — мало восприимчивы. Определяются признаки  пневмонии и выпотного плеврита. В крови и мокроте обнаруживают большое количество сибиреязвенных бактерий. У части больных появляются боли в животе, присоединяются тошнота, кровавая рвота, жидкий кровянистый стул. В последующем развивается парез кишечника, возможен перитонит. Обнаруживаются симптомы менингоэнцефалита. Инфекционно-токсический шок, отёк и набухание головного мозга, желудочно-кишечное кровотечение и перитонит могут явиться причиной летального исхода уже в первые дни заболевания.

Профилактические мероприятия осуществляют в тесном контакте с ветеринарной службой. Выявленных больных животных следует изолировать, а их трупы сжигать; инфицированные объекты необходимо обеззараживать. Для дезинфекции шерсти и меховых изделий применяется камерная дезинфекция. Лица, находившиеся в контакте с больными животными или заразным материалом, подлежат активному врачебному наблюдению в течение 2 недель. Важное значение имеет вакцинация людей и животных сухой живой сибиреязвенной вакциной. Одна из первых таких вакцин, [вакцина Ланге](http://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%92%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BD%D0%B0_%D0%9B%D0%B0%D0%BD%D0%B3%D0%B5&action=edit&redlink=1), создана Иваном Николаевичем Ланге.

Прогноз во многом определяется формой заболевания, в целом является условно неблагоприятным и возможен летальный исход даже при адекватном и своевременном лечении.

При отсутствии соответствующего лечения кожной формы летальность 10—20 %. При лёгочной форме заболевания в зависимости от штамма возбудителя летальность может превышать 90—95 %, даже при соответствующем лечении. Кишечная форма — около 50 %. Сибиреязвенный менингит — 90 %.

**Культуральные свойства**: возбудитель хорошо растёт на простых питательных средах:

На МПБ - природный рост в виде комочка ваты, среда остаётся прозрачной. При посеве уколом в столбик желатины растёт в виде нежных нитей, общая картина роста напоминает ёлочку, растущую верхушкой вниз. Температура оптимум 37градусов, но может расти при температурах от 5 до 41.

Вирулентные штаммы в организме восприимчивых животных синтезируют большое количество капсульного вещества, обладающего выраженной антифагоцитарной активностью, и сложный экзотоксин.

Эти два фактора и обеспечивают вирулентность возбудителя:

1. При уходе за больными животными.

2. При вскрытии трупов.

3. На предприятиях по обработке животного сырья.

4. При употреблении заражённых мясных продуктов.

Возбудитель находится в местах локализации патологического процесса и часто – в крови.

**В зависимости от входных ворот инфекции различают формы сибирской язвы:**

1. Кожная (сибиреязвенный карбункул)

2. Кишечная

3. Легочная

4. Септическая

**II Самостоятельная работа студентов**

**Оснащение занятия:**

**-** компоненты для постановки реакции Асколи,

**-** спиртовки, бактериологические петли, пипетки, пробирки**,**

**Задание № 1**

**Записать методики взятия биоматериала при подозрении на сибирскую язву**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Формы заболевания** | **Биоматериал** | **Способы взятия биоматериала** |
| Кожная | Содержимое везикул, пустул, карбункулов, язв | 1.Перед взятием биоматериала вокруг поражённого участка кожу очистить спиртом.2. Брать содержимое стерильной пастеровской пипеткой, тонкий конец которой запаивать. Если под рукой нет пипетки – прокипятить кусок нитки, опустить её в очаг и пропитать содержимым. Нитку опустить в пробирку и закрыть пробкой |
| Кишечная | Испражнения | В стерильные стеклянные банки. |
| Легочная | Мокрота | На фильтры |
| Пробы из объектов внешней среды | - Пищевые продукты,- вода,- почва,- воздух | В стерильные банки. |
| Пробы материалов от животных | - образцы кожи,- шерсть,- щетина | В стерильные банки. |
| Трупы людей и животных |  |  |

**Задание № 2**

**Поставить реакцию Асколи.**

В тех случаях, когда выделить в чистой культуре возбудителя не удаётся – ставять реакцию Асколи с целью обнаружения антигенов сибиреязвенных бацилл. Для постановки реакции необходимы:

1. Преципитирующая сибиреязвенная сыволротка,

2. Сибиреязвенный стандартный антиген ( готовят в институтах вакцин и сывороток),

3. Антиген из материала, подлежащего исследованию.

**Алгоритм действия**: исследуемый материал( кожа, шкура, шерсть, кусочки органов животных заливают изотоническим раствором хлорида натрия из расчёта 10 мл физраствора на 1 гр. материала.Пробирку ставят на водяную баню, экстрагируют кипячением на слабом огне 10 – 2- минут. Полученный экстрат фильтруют через бумажный фильтр.

**Задание № 3**

**Изучить морфологию возбудителя сибироской язвы. Зарисовать.**

Из культуры антракоида ( по морфологии напоминает возбудителя сибирской язвы, но не патогенен) приготовить микропрепарат по общепринятой методике, окрасить по методу Грама, промикроскопировать под иммерсионной системой, зарисовать.**Планируемые результаты**: искать крупные грамположительные палочки с обрубленными концами. На теле клеток могут быть неокрашенные фрагменты – это споры.

**III. Закрепление:**

**Ответить на вопросы:**

1. Расскажите о морфологии возбудителей сибирской язвы.
2. Поясните, как в клетке располагаются споры.
3. Расскажите о культуралных свойствах возбудителей сибирской язвы
4. Охарактеризуйте источник заболевания и пути передачи при сибирской язве.
5. Поясните, почему заболевание относится к особо опасным инфекциям.
6. Перечислите формы заболевания сибирской язвой.
7. Расскажите о технике безопасности при работе с возбудителями сибирской язвы.
8. Расскажите, для чего используется реакция Асколи.
9. Перечислите методы микробиологической диагностики сибирской язвы. Охарактеризуйте их.
10. Расскажите о профилактике заболевания (специфической и неспецефической)

**IV. Домашнее задание:** Составить конспект «Кишечный иерсиниоз»

**Литература:** лекционный материал,

материалы интернета.

**Занятие № 6**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики псевдотуберкулёза,**

**Цель**:

 выделенме и идентификация возбудителей псевдотуберклёза.

**Тип занятия:**

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи: -**

 - развести исследуемую и контрольную сыворотку
- зарисовать схему микробиологической диагностики псевдотуберкулёза.

 - зарисовать схему развёрнутой реакции агглютинации,

**Планируемые результаты:**

**Знать:**

 - что такое исследуемая сыворотка;

 - что такое диагностическая сывротка;

 - технику постановки РА,

 - ингридиенты для постановки развёрнутой РА,

 - что такое диагностический титр;

 - терминологию;

**Уметь**:

 - готовить ингредиенты для постановки развёрнутой и ориентировочной РА;

 - соблюдать ТБ при постановке серологических реакций;

 - учитывать результаты реакций;

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях;

- мульмедиа;

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: диагностическая сыворотка, диагностический титр, кишечный иерсиниоз, псевдотуберкуллёз, фекально – оральный путь передачи инфекции, алиментарный путь передачи инфекции, полиморфизм клинической картины, контрольная сыворотка, исследуемая сыворотка.

|  |
| --- |
| **Мотивация**: псевдотуберкулез (дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка) - острое инфекционное заболевание, характеризующееся полиморфизмом клинических проявлений с преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта, кожи и опорно-двигательного аппарата.  |

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  Возбудтель псевдотуберкулеза относится к семейству Enterobacteriaceae, роду Yersinia, виду Yersinia pseudotuberculosis. Грамотрицательная палочка размером 0,8-2x0,4-0,6 мкм, не требовательна к питательным веществам. Растет на обычных и обедненных средах, лишенных азотосодержащих веществ и органических соединений углерода. Содержит соматический О - и жгутиковый Н-антигены. По О-антигену выделяют 8 серологических вариантов возбудителя псевдотуберклеза. Заболевание у человека чаще всего вызывают I и III, реже II, IV, V серовары. При разрушении микробных клеток выделяется эндотоксин, у некоторых штаммов обнаружена способность к продукции экзотоксинов. Важным свойством возбудителя является способность расти на питательных средах при низких температурах. Так Yersinia pseudotuberculosis способна размножаться при температуре +4 - +8оС. Она устойчива к повторному замораживанию, способна длительно существовать в почве, воде, на различных пищевых продуктах, а в условиях низкой температуры и повышенной влажности - размножаться и накапливаться. Возбудитель псевдотуберклеза быстро погибает при высыхании, воздействии прямого солнечного света, высокой температуры, при кипячении погибает через 10-30 сек. Дезинфицирующие вещества (3% раствор хлорамина, 3-5% раствор карболовой кислоты и лизола, раствор сулемы 1:1000 и др.) убивают псевдотуберкулезный микроб в течение 1-2 ч. Возбудитель псевдотуберклеза распространен в природе чрезвычайно широко. Он выделен из органов и фекалий многих видов млекопитающих, птиц, земноводных, членистоногих, а также из смывов с овощей, корнеплодов, из фуража, почвы, пыли, воды. Однако основным резервуаром возбудителя и источником заболеваний человека являются синантропные и другие грызуны. Они высоко восприимчивы к псевдотуберкулезному микробу, распространены практически повсеместно, всегда имеют возможность инфицировать своими выделениями продукты питания, воду и почву, где возбудитель не только сохраняется длительное время, но при определенных условиях и размножается. Другим резервуаром псевдотуберкулезных бактерий является почва. Человек, как правило, источником заражения псевдотуберкулезом не является.Ведущий путь передачи инфекции - пищевой. К основным факторам передачи относятся овощные блюда (салаты из овощей) и молочные продукты, употребляемые в пищу без предварительной термической обработки. Накоплению возбудителя в продуктах способствует хранение их в овощехранилищах и холодильниках. Второе место занимает водный путь передачи. Он обычно реализуется при употреблении воды из открытых водоемов.Спорадическая заболеваемость псевдотуберкулезом человека наблюдается на протяжении всего года, хотя имеется четко выраженный сезонный подъем в зимне-весенний период, когда суточная температура воздуха колеблется от -5 до +10оС. Групповые заболевания встречаются в организованных коллективах и связаны с питанием из общего пищеблока (детские учреждения, учебные заведения, воинские части, другие учреждения).**Патогенез.** Возбудитель псевдотуберклеза попадает в желудочно-кишечный тракт с инфицированной пищей или водой. Преодолев защитный барьер желудка, микробы фиксируются в клетках лимфоидного аппарата кишечника, оттуда проникают в регионарные лимфатические узлы, вызывая их воспаление. На этой стадии, как правило, клинических проявлений болезни нет, заболевание протекает в латентной форме, а в случае несостоятельности барьера регионарных лимфатических узлов микробы попадают в кровяное русло и различные органы, происходит их массовая гибель, сопровождающаяся высвобождением большого количества эндотоксина, появляются клинические симптомы болезни (лихорадка, интоксикация, поражение органов). Возбудитель фиксируется в клетках системы фагоцитов. Эти патогенетические факторы обусловливают возможность развития генерализованной формы заболевания и объясняют полиморфизм клинической картины псевдотуберклеза. Патологоанатомическая картина при тяжелом течении болезни свидетельствует о поражении всех органов и систем. В органах богатых макрофагальными элементами определяются псевдотуберкулезные очаги - "гранулемы", а иногда и микроабсцессы, в других органах отмечаются неспецифические изменения дистрофического характера. При длительном воздействии псевдотуберкулезных микробов и их токсинов у больных происходит сенсибилизация организма с последующим появлением ряда аллергических симптомов. Иммунитет при псевдотуберкулезе развивается медленно, сохраняется короткий период, иногда не формируется вовсе, в связи, с чем возможны обострения, рецидивы и повторные заболевания. Заключительным звеном патогенеза псевдотуберкулеза служит освобождение организма от возбудителя и выздоровление.**Симптомы и течение**. Инкубационный период от 3 до 18 дней, в среднем 10 дней. Заболевание начинается остро без выраженной продромы. Появляется озноб, головная боль, недомогание, боль в мышцах и суставах, бессонница, першение в горле, кашель. Температура тела повышается до 38-40оС. Наряду с симптомами общей интоксикации у части больных на первый план выступают признаки поражения желудочно-кишечного тракта (боли в животе различной локализации, тошнота, рвота, понос). Кожа сухая и горячая, нередко наблюдаются одутловатость и гиперемия лица и шеи - симптом "капюшона", бледный носогубный треугольник, ограниченная гиперемия и отечность кистей и стоп - симптомы "перчаток" и "носков", инъекция сосудов конъюнктив век и глазных яблок, диффузная гиперемия слизистой оболочки ротоглотки иногда с точечной или мелкопятнистой энантемой. На языке - белый налет. Пульс соответствует температуре. Артериальное давление понижается, отмечается сосудистая лабильность. На 1-6-й, чаще на 2-4-й день болезни появляется ярко-красная точечная сыпь на нормальном фоне кожи. Наряду с точечной, скарлатиноподобной наблюдается и мелкопятнистая сыпь..Нередко больные жалуются на тяжесть и боли в правом подреберье. Определяется увеличенная болезненная печень, желтушное окрашивание кожи и склер, фиксируется потемнение мочи, выявляется уробилинемия, гипербилирубинемия, повышенная активность трансфераз. Селезенка увеличивается у 10-18% больных.Псевдотуберкулез может протекать с обострениями и рецидивами. Обострение характеризуется ухудшением общего состояния, повышением температуры тела, появлением новых органных поражений или усилением угасающих симптомов.Рецидив возникает после периода кажущего выздоровления. Через 1-3 нед вновь появляются типичные признаки болезни. Рецидивов бывает 1-2, реже 3 и более. Известно несколько клинических классификаций псевдотуберкулеза. В практике остается классификация, отражающая основные клинические проявления, тяжесть и течение болезни. Клинические формы выделены на основании преобладающего синдрома поражения органов, при каждой из них могут быть симптомы любой другой формы, но они не являются ведущими. Каждая из клинических форм дает ориентацию в подходе к этиотропному и патогенетическому лечению, позволяет определить комплекс лабораторных и функциональных исследований. **Выделяют:** 1. Абдоминальную (поражение желудочно-кишечного тракта),2. Желтушную (боли в правом подреберье, потемнение мочи, желтушность кожи и склер, увеличение печени, билирубинемия, гипертрансаминаземия). 3. Артралгическую,4. Экзантемную (экзантема, симптомы "капюшона", "перчаток", "носков"), 5. Катаральную (кашель, насморк, першение и боли в горле, гиперемия и отек слизистой оболочки ротоглотки), 6. Смешанную (к ней относятся заболевания, протекающие с четко выраженными признаками двух клинических форм. Например, абдоминальной и желтушной), 7. Генерализованную,8. Стертую (все синдромы выражены настолько ярко, что трудно выявить преобладание одного из них), 9. Латентную формы.**Осложнения**. Наиболее частыми осложнениями псевдотуберкулеза являются аллергические симптомы: крапивница, отек Квинке, реактивные артриты, узловатая эритема, синдром Рейтера. Реже наблюдаются псевдотуберкулезный менингит и менингоэнцефалит, нефрит, острая почечная недостаточность, миокардит, пневмония.**II Самостоятельная работа студентов****Оснащение занятия**1. Ингредиенты для постановки развёрнутой реакции агглютинации,
2. Питательная среда Серова,
3. Бактериологические петли, спиртовки, пипетки.

**Задание № 1****Записать в протокольную тетрадь:**Клинический диагноз основывается на сочетании характерных для псевдотуберкулеза признаков: острое начало заболевания, синдром общей интоксикации, лихорадка, поражение кожи (экзантема, симптомы "капюшона", "перчаток", "носков"), катаральное воспаление слизистой оболочки ротоглотки, признаки поражения желудочно-кишечного тракта, синдром гепатита, поражение суставов, аллергические симптомы, изменения крови и мочи. Вспомогательное значение имеет эпидемиологический анамнез. В установлении окончательного диагноза решающую роль имеют лабораторные методы - бактериологический и серологический.**Задание № 2****Записать схему забора биоматериала при рикккетсиозе**

|  |  |
| --- | --- |
| **Материал** | **Способы забора** |
| 1.Фекалии |  |
| 2. Моча |  |
| 3. Мазки из ротоглотки |  |
| 1. Удалённый аппендикс
 |  |
| 1. Мезентериальные лимфатические узлы
 |  |

Используют методику Паттерсона и Кука, основанную на способности Y. pseudotuberculosis расти при пониженной температуре в среде подращивания (стерильный фосфатно-солевой буфер рН 7,4, среда Серова и др.). При прямом посеве крови на питательные среды получить гемокультуру не удается, однако выделение возбудителя возможно путем биопробы на животных.**Задание № 3****Провести серологическую диагностику псевдотуберклеза:**Поставить развёрнутую реакцию агглютинации по общепринятой методике. **Планируемые результаты**: Диагностическим титром может считаться для РА 1:200, для РНГА 1:100. Достоверным диагностическим критерием при использовании данных методов является четырехкратное нарастание титра специфических антител в динамике заболевания при исследовании парных сывороток. Использование серологических методов, основанных на обнаружении специфических антител к антигенам иерсиний, имеет ряд серьезных недостатков, основными из которых являются невысокая специфичность и поздние сроки подтверждения диагноза.**Задание № 4** **Записать методы дополнительной серологической диагностики псевдотуберклеза** В качестве диагностикума очищенной псевдотуберкулезной гипериммунной сыворотки позволило создать несколько экспресс-методов обнаружения антигенов иерсиний в организме больных: РНГА, РНИФ (реакция непрямой иммунофлуоресценции), РКА (реакция коагглютинации), латекс-агглютинация, ИФА (иммуноферментный анализ). Эти методы позволяют обнаружить антигены иерсиний в различных биологических средах организма в первые дни заболевания.В настоящее время апробированы и в ближайшем будущем найдут широкое практическое применение для диагностики псевдотуберкулеза такие современные методы, как иммуноблотинг и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Эти методы значительно увеличивают вероятность правильного лабораторного диагноза уже при первом обследовании больного. Так, для постановки диагноза при помощи ПЦР достаточно несколько молекул ДНК иерсиний в исследуемом материале. |

 |
|

**III Закрепление**:

**Ответить на вопросы:**

1. Почему псевдотуберкулёз называют «болезнью из холодильника ?
2. Расскажите об источниках заболевания псевдотуберкулёзом и путях передачи.
3. Охарактеризуйте возбудителя по морфологическим свойствам.
4. Характеризуйте возбудителя по культуральным свойствам.
5. Расскажите об истории открытия возбудителя псевдотуберкулёза.
6. Поясните, почему псевдотуберкулёз относится к особо опасым инфекциям.
7. Расскажите. Почему по клинической картине заболевание называют полиморфным.
8. Перечислите и охарактеризуйте клинические формы псевдотуберкулёза.
9. Расскажите о способах забора биологического материала при различной локализации возбудителя и технике безопасности при заборе.
10. Назовите и охарактеризуйте методы микробиологической диагностики псевдотуберкулёза.

**IV. Задание на дом**: составить по 5 тестов к теме: микробиологическая диагностика псевдотуберкулёза.

**Литература:** Протокол практического занятия № 6

 К.Ф. Черкесс, микробиология с ТМИ, стр. 133- 140 Материалы интернета.

**Занятие № 7**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики бруцеллёза**

**Цель:** научиться диагностировать бруцеллёз.

**Тип занятия**:  практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

 - раститровать сыворотку больного,

 - развести исследуемую и контрольную сыворотку
 - зарисовать схему постановки реакции Райта,

 - изучить схему постановки реакции Хиддельсона

 - изучить морфологические и культуральные свойства бруцелл.

**Планируемые результаты**:

 **Знать:**

 - что такое особо опасные инфекции, в частности бруцеллёз,

 - что такое бруцеллин, его природа и назаначение,

 - технику безопасности при работе с материалом от больного бруцеллёзом;

 - терминологию;

 - классификацию бруцелл

 **Уметь**:

- готовить ингридиенты для постановки реакции Райта,

 - соблюдать ТБ при проведении забора и работе с материалом ООИ,

 - ставить реакцию Райта и хиддельсона

 - учитывать результат реакции

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия**:

 - методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях

 - сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: реакция Райта, реакция Хиддельсона, свиной, бычий типы бруцелл, бруцеллин.

|  |
| --- |
|  **Мотивация**: Источником бруцеллёзной инфекции являются домашние животные во время эпизоотий. Возбудитель передаётся человеку через через контакт с заражёнными фекадиживотными, молоком, мясом, мочой с выделениями больных животных ( околоп-лодной лодная жидкость и влагалищная слизь). Бруцеллы обладают способностью к миграции.  |

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь.**

 Возбудитель открыт Брюссом в 1887 году, относится к роду бруцелла

**Морфология**: или коккобактерии, грамотрицательные, располагаются по одному, парами или беспорядочно.

**Культуральные свойства**: бруцеллы растут на селективных средах, содержащих определённые красители и антибиотики. На печёночном бульоне образуют помутнение в результате выпадения слизистого осадка. Хорошо растут на сывороточно – декстрозном агаре, агаре из картофельного настоя. Рост проявляется через 4 – 30 дней. переходу от одного хозяина к другому. В Р.Ф. заболеваемость носит профессиональный характер (ветеритарный и зоотехнический персонал, работники молочных ферм, мясокомбинатов и др.) Путь передачи – через повреждённую кожу, слизистые оболочки дыхательных путей, коньюктиву глаз, ЖКТ).

 В условиях сельского хозяйства наблюдается сезонность заболевания ( март – май – время окота коз и овец, переходу от одного хозяина к другому. В Р.Ф. заболеваемость носит профессиональный характер (ветеритарный и зоотехнический персонал, работники молочных ферм, мясокомбинатов и др.) Путь передачи – через повреждённую кожу, слизистые оболочки дыхательных путей, коньюктиву глаз, ЖКТ).

**Классификация:**

- Род Bruzella melitensis – заболевание овец,

- Bruzella abortus bowis- заболевание крупного рогатого скота,

 - Bruzella suis – заболевание свиней.

Клинические проявления: инкубационный период 1 – 3 недели. В первые 10 суток бруцеллы размножаются в лимфатических узлах (миндалины, заглоточные, подъяхычные, подчелюстные лимфатические узлы). Через 3 недели начинается формирование гранулём. Из лимфатических узлов бруцеллы попадают в кровоток. Затем в печень, селезёнку, костный мозг. Болезнь имеет остросептический характер. У больного часто наблюдается поражение опорно - двигательного аппарата. Кроветворной, нервной и половой систем.Бруцеллёз часто переходит в хроническую форму. Иммунитет – стойкий.

**II Самостоятельная работа студентов:**

**Оснащение занятия:**

1. Пробирки (по 6 – 7 в штативе).
2. Сыворотка больного.
3. Бруцеллёзный диагностикум.
4. Физраствор.
5. . Стерильные пипетки.
6. Спиртовки.
7. Ингредиенты для приготовления печёночных сред.
8. Электронная презентация.

**Задание № 1.**

**Записать в протокольную тетрадь виды биоматериала и методы его взятия при подозрении на бруцеллёз**

|  |  |
| --- | --- |
| **Биоматериал** | **Способы забора биоматериала** |
| 1. Кровь
 |  |
| 1. Моча
 |  |
| 1. Молоко
 |  |
| 1. Спиномозговая жидкость
 |  |
| 1. Желчь
 |  |
| 1. Испражнения
 |  |
| 6. Мокрота |  |
| Абортированный материал |  |

**Задание № 2**

**Провести серологическую диагностику бруцеллёза ( поставить реакцию Райта**):

 **Алгоритм действия:**

1. Поставить в штатив 9 чистых обезжиренных пробирок,
2. налить в каждую пробирку по 1 мл изотонического раствора хлорида натрия,
3. внести в первую пробирку 1 мл. исследуемой сыворотки в разведении 1:50,
4. перенести поочерёдно в следующие пробирки по 1 мл. сыворотки до 7 пробирки ( разведение 1 : 3200,
5. в 8 –ю пробирки внести 1 мл. Исходной сыворотки (контроль сыворотки),
6. в 9–ю пробирку внести 2 капли бруцеллёзного диагостикума ( контроль диагностикума),
7. В первые 7 пробирок накапать по 2 капли диагностикума.
8. Инкубировать в термостате 2 часа при 37 гр. С 20 часов при комнатной температуре.

**Планируемые результаты**: положительный результат характеризуется образованием на дне осадка агглютината. Используется для регистрации результата четырхкрестная система обозначения:

++++ = полная агглютинация, при которой осадок полностью опустился на дно пробирки в виде зонтика. Надосадочная жидкость прозрачна.

+++ - почти полная агглютинация, осадок такой же, жидкость почти прозрачная,

++ - отмечаются следы РА, осадок едва заметен, жидкость не прозрачная,

+ -содержимое пробирок равномерно мутное, без осадка, неотличимо от пробирки КА. В контроле: КА – слегка мутная, КС – прозрачная. Последнее разведение сыворотки, в которой наблюдается агглютинация – считается её титром.

Положительная реакция в разведении 1: 200 считается её диагностическим титром.

**Задание № 3**

**Поставить и учесть реакцию Хиддельсона**.

Это ускоренный метод диагностики бруцеллёза, отличающийся высокой специфичностью.

**Алгоритм действия**:1. На чистую обезжиренную стеклянную пластинку размером 20х22нанести микропипеткой 4 дозы исследуемой сыворотки: 0,04; 0,02;0,01 и 0, 01 мл.

1. В первые 3 капли внести 0,03 мл антигена Хиддельсона, в 4-ю каплю ( контроль) внести 0.03 мл. физраствора
2. Перемешать ингредиенты, переходя от малой к большей дозе сыворотки
3. Через 1-2 мин. Просмотреть контроль – он должен быть гомогенным,
4. Просмотреть реакции.
5. **Планируемые результаты:**

В первые минуты происходит полное просветление жидкости с образованием хлопьев. В сомнительном варианте хлопья появляются только в дозе сыворотки 0,04. Тогда реакцию следует повторить через 7 – 10 дней.

**Задание № 4**

**Записать и по возможности провести бактериологическую диагностику бруцеллёза**

 **Алгоритм действия**: Материал (кровь и др.) засеять в 3 флакона с печёночным бульоном. Инкубировать в термостате. Каждые 5 дней делать пересевы на плотные печёночные среды.

**Планируемые результаты**: при наличии роста выделить чистую культуру и провести идентификацию по общепринятой методике.

**Задание № 5.**

**Записать в протокольную тетрадь**:

1.Биологическая проба: ввести морским свинкам в паховую область инфицированный материал. Планируемые результаты: при наличии заболевания развивается инфекционный процесс в паховых лимфатических узлах.

1.Аллергическая диагностика (проба Бюрне).

Больному с подозрением на бруцеллёз вводят в нижнюю треть предплечья с ладонной поверхности внутрикожно 0,1 мл. бруцеллина. Учёт реакции производят через 24 – 48 часов. Отёк и гиперемия размером 4х6 указывают на положительную реакцию.

**III. Вопросы для закрепления:**

1. Расскажите об открытии возбудителей бруцеллёза.

2. Поясните, к какой группе заболеваний относится бруцеллез. Почему?

3. Расскажите о классификации бруцелл.

4. Пути передачи инфекции.

5. Расскажите о морфологических и культупральных свойствах бруцелл.

 6. Перечислите основные методы микробиологической диагностики бруцеллёза.

 7. Поясните, что такое диагностикум и где он применяется.

 8. Поясните природу бруцеллина и его применение.

9. Расскажите, что такое диагностический титр

10.Расскажите о методах постановки реакциий Райта-Хиддельсона.

**Задание на дом**: Легионеллёз

Литература: конспект лекции. Ф.К.Черкесс, стр.409 – 415

**Занятие № 8**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики легионеллёза.**

**Цель**: Разобрать особенности строения, путей передачи легионелл, методы микробиологической диагностики легионеллёзов.

**Тип занятия:**

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи**:

 - вскрыть связь между внешней средой и инфицированием легионеллёзной инфекцией,

 - зарисовать схему микробиологической диагностики легионеллёзов

**Планируемые результаты**:

**Знать**:

 - что такое легионеллёз,

 - формы заболевания и пути передачи,

 - методы микробиологической диагностики

 - методики заражения куриных эмбрионов,

 - морфологические и культуральные свойства легионелл.;

 - терминологию;

**Уметь**:

 - заражать куриные эмбрионы,

 - забирать инфицированный материал,

 - соблюдать технику безопасности при заборе материала и работе
 - соблюдать ТБ при постановке РСК,

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: РИФ, легионеллёз, лихорадка Понтиак, аэрогенный путь передачи инфекции, резистентность.

**Мотивация:** Легионеллёз – острое инфекционное заболевание, проявляющееся интоксикацией, лихорадкой, пневмонией, поражением дыхытельных путей, желудочно-кишечного тракта, почек и центральной нервной системы. Протекает в двух формах: 1. тяжёлая очаговая пневмония (болезнь легионеров), 2.без пневмонии (лихорадка Понтиак).

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:**

|  |
| --- |
|  |

Легионеллез — острая сапронозная инфекция, вызывается легионеллами, с аэрозольным механизмом заражения

**Морфология:** грамотрицательная палочка с заострёнными концами, подвижна, иммет несколько жгутиков, спор и капсул не образуют, склонны к полиморфизму. Факультативные внутриклкточные паразиты.

**Культуральные свойства**: не растут на простых средах. Требуют добавления биологических жидкостей, гемоглобина, пирофосфата железа,лучше растут в атмосфере углекислого газа, температурный оптимуи 24 – 42 гр. Колонии вырастают на 3 – и сутки – округлые, сероватые , блестящие, имеют ровные края. На 4-й день образуют пигмент коричневого цвета. Культивируются чаще на куриных эмбрионах, культурах клеток морских свинок.

**Биохимические свойства**: легтонеллы продуцируют оксидазукаталазу; фепментируют крахмал разжижают желатин; не продуцируют уреазу.

**Факторы патогенности**: полисахаридный эндотоксин, экзоферменты ( протеазы). гемолизины, токсины.

 Длительное инкубирование легионелл на искусственных питательных средах приводит к снижению вирулентности культуры. Штамм, утративший свою вирулентность, может восстановить её при переменном пассировании через куриные эмбрионы и организм морской свинки.

**Эпидемиология:** место естественного обитания легионелл – открытые водоёмы. Источник инфекции – вода систем кондиционирования воздуха рециркуляторнрго типа, душевые установки, ванны для бальнеопроцедур. Механизм передачи – респираторный. Большинство вспышек связано с замкнутыми системами охлаждения воды и технологическими циклами, при функционировании которых образуется высокодисперсный аэрозоль, содержащий легионеллы.

**Легионеллы** – могут размножаться внутри амёб, обитающих в открытых водоёмах и почве (в 1 амёбе может находиться более 1000 микробных клеток). Легионеллы хорошо размножаютсяв открытых тёплых водоёмах с сине – зелёными водорослями.

К инфекции восприимчивы все возрастные группы. Болеют чаще люди, занятые земляными работами, а также лица, находящиесяв помещениях, где действуют системы кондиционирования воздуха. Для эпидемических вспышек характерна сезонность (июль- сентябрь), спорадические случаи регистрируются чаще летом.

Легионеллёз зарегистрирован практически на всех континентах, в России в первые описан в 1980 году Прозоровским.

**Резистентность**: длительно сохраняются и размножаются в водной среде, во влажной почве, образуют плёнки и осадок на различных поверхностях, паразитируют в организм простейших. Выдерживают температуру 700C, длительное действие хлора высокой концентрации, но чувствительны к другим дезрастворам.

**Патогенез и клиника.**

Все виды легионелл патогенны для человека. Ведущим моментом в патогенезе является токсическое действие на организм, что приводит к развитию сосудистых нарушений, образованию участков некроза в печени и лимфотических узлах. Иногда преобладает синдром пневмонии, которая протекает крайне тяжело (летальность 8 –38%).

**II. Самостоятельная работа студентов.**

**Оснащение занятия:**

- куриные эмбрионы,

- исследуемый материал,

- шприцы, иглы, тампоны,

- парафин, спиртовки, копьё,

- пипетки, стерильные пробирки,

- компоненты для ИФА,

- компоненты для коагглютинации.

**Задание № 1**

|  |
| --- |
| **Заполнить таблицу** |
| **Материал** | **Способ взятия** |
| 1. Кровь для посева на гемокультуру.2. Кровь для серологической диагностики.3. Секциционный материал.4. Мазок из зева.5. Образцы внешней среды:* Вода
* Почва
 |  |

**Задание №2**

**Записать в протокольную тетрадь реакцию непрямой флюоресценции.**

**1Алгоритм действия:**

1. Взять 7 – 9 – тидневный куриный эмбрионов
2. Посмотреть в овоскопе на наличие эмбриона.
3. Поставить в подставку тупым концом вверх.
4. Тампоном, смоченным спиртом, обработать.
5. Обсушить.
6. Набрать исследуемый материал в стерильный шприц (0,1 мм).
7. Пробить стерильнымкопым отверстие в скорлупе на полюсе.
8. Иглу погрузить на глубину 15мм (при заражении в аллантоисную полость).
9. Расплавленным парафином залить отверстие.
10. Поставить эмбрион термостат при 370С.

**Задание № 3**

**Ознакомиться со схемой лабораторной диагностики легионеллёзов.**

1. Зарисовать таблицу.

2. Отметить этапы исследовния.

3. Обратить внимание на наиболее результативные методы бактериального исследования.

**Задание №4**

**Провести экспресс – диагностику легионеллёза:**

Выделение культур легионелл сопряжено с трудностями, поэтому имеет большое значение экспресс – диагностика.

1. Иммуноферментный анализ – это вариант И.Ф.А.

**Алгоритм действия:**

А). В лунки, сенсибилизированных легионеллезными иммуноглобулинами планшетов, внести разведение исследуемого материала (антиген) и инкубировать 1 час при 370С. После отмывки внести коньюгат (легионеллёзные иммуноглобулины с ферментом), инкубировать ещё 1 час, отмыть, внести субстрат – индикаторный раствор и после 30-ти минутной инкубации фотометрически учесть реакцию.

Б). Реакция коагглютинации: является специфическим и чувствительным методом определения антигенов легионелл в материале различного происхождения.

При постановке реакции использовать реагент (диагностикум) – взвесь стафилококков меченых легионеллёзным материалом. Инкубировать 2 часа.

Планируемые результаты: появление выраженного агглютината свидетельствует о положительном результате.

**III Закрепление.**

**I . Вопросы для контроля знаний**.

1. Морфология легионелл.
2. Формы инфекционного процесса.
3. Материал для исследования в зависимости от локализации процесса.
4. Методика заражения куриного эмбриона.
5. Источник инфекции и пути передачи при легинеллёзах.
6. Основные методы экспресс – диагностики легионеллёзов.
7. В чём заключается иммуноферментный анализ легионеллёов.

**II**. **Провести тестирование.**

**IV Домашнее задание**: Характерисика вирусов.

**Литература**: К.Ф Черкесс, микробиология, стр. 180 – 187,

А. Алеушкина, микробиология, стр. 77 – 79.

**ТЕСТ – КОНТРОЛЬ**

 **1. ЛЕГИОНЕЛЛЁЗ – ЭТО…**

а) Острое или хроническое, нередко септиопиемическое заболевание внутренних органов

 б) Острое инфекционное заболевание, проявляющееся интоксикацией, пневмонией.

 в) Острое инфекционное заболевание, поражающее домашних и других животных.

2. **ЛЕГИОНЕЛЛЫ РАСТУТ НА СРЕДАХ:**

 а) Основных

 б) Дифферинциально – диагностических

 в) С добавление биологических жидкостей

3. **ВРЕМЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ**:

 а) 3 – 5 дней

 б) 1 – 2 дня

 в) 8 – 10 дней

**4. МЕСТО ЕСТЕСТВЕННОГО ОБИТАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ:**

 а) организм человека

 б) открытие водоёмы

 в) растения

**5. ДЛЯ ЛЕГИОНЕЛЛ ХАРАКТЕРНО НАЛИЧИЕ**:

 а) спор

 б) капсул

 в) жгутиков

**6. ЛЕГИОНЕЛЛА - ЭТО:**

 а) грамотрицательная палочка

 б) грамположительная палочка

 в) Кокки

**7. КОЛОНИИ ЛЕГИОНЕЛЛ БЫВАЮТ:**

 а) округлые, выпуклые с коричневатыми пигментом

 б) имеет белый мицелий

 в) шероховатые колонии

**8. ПУТИ ЗАРАЖЕНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛЁЗОМ**:

 а) аэрозольный

 б) гематогенный

 в) вертикальный

**9.ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ОПТИМУМ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ:**

 а) 50-600 С

 б) 5-200С

 в) 25-450C

**10. НА КАКОЙ СЕЗОН ПРИХОДИТСЯ ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ ВСПЫШКА**:

 а) зима

 б) лето

 в) осень

**11. ПЕРВАЯ ЭПИДЕМИЯ ЛЕГИОНЕЛЛЁЗОВ ЗАРЕГИСТРИРОВАНА В:**

 а) 1976 году

 б) 1980 году

 в) 1984 году

**12. ПИГМЕНТ ЛЕГИОНЕЛЛ:**

 а) зелёного цвета

 б) фиолетового цвета

 в) коричневого

**13. ЗАРАЖЕНИЕ ЛЕГИОНЕЛЛЁЗОМ ПРОИСХОДИТ:**

 а) контактным путём

 б) алиментарным путём

 в) через дыхательные пути

**14. КАКОЙ ФОРМЫ ЛЕГИОНЕЛЛЁЗА НЕ БЫВАЕТ:**

 а) острой инфекционной

 б) пневмонической

 в) острого распираторного заболевания без пневмонии

**15. В КАЧЕСТВЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ЛЕГИОНЕЛЛЕЗ ИСПОЛЬЗУЮТ:**

 а) плевральную жидкость,

 б) кусочки почечной ткани,

 в) спинномозговую жидкость,

**Занятие № 9**

**Тема: Проведение микробиологической диагностики вирусных инфекций Индикация и идентификация вирусов**.

**Цель**:

 научиться культивировать вирусы.

**Тип занятия**

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

- зарисовать виды вирионов

 **Планируемые результаты**:

**Знать:**

 - строение вирусов,

 - классификацию вирусов,

 - что такое реакция нейтрализации,

 - что такое реакция агглютинации,

 - ингредиенты для постановки названных реакций,

 - терминологию;

**Уметь**:

- отработать методику заражения куриного эмбриона,

 - забрать аллантоисную жидкость,

 - ставить реакцию агглютинации,

 - ставить реакцию нейтрализации

 - учитывать результаты реакций;

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: реакция агглютинации, контрольная сыворотка, исследуемая сыворотка, гемолиз, реакция нейтрализации, куриный эмбрион, аллантоисная жидкость.

 **Мотивация**: вирусы – особая неклеточная форма существования живой материи. Это организмы, не способные существовать и размножаться самостоятельно Вирусы паразиты, но паразиты на генетическом уровне. Диагностика вирусных инфекций сложная и многообразная. Ею занимаются специальные вирусологические лаборатории

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную** **тетрадь:**

стремительные темпы развития вирусологии во второй половине XX в. позволили получить важнейшие сведения о структуре и химическом составе разных вирусов, в том числе их генома, а также о характере взаимодействия с клетками хозяев. Доказано, что вирусы существуют в двух качественно разных формах: внеклеточной - вирион и внутриклеточной - вирус. Вирион наиболее простого вируса представляет собой нуклеопротеид, в состав которого входит вирусный геном, защищенный белковой оболочкой - капсидом. В то же время внутриклеточный вирус есть самореплицирующаяся форма, не способная к бинарному делению.

**Вирусы характеризуются:**

* наличием одного типа нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК);
* отсутствием клеточного строения;
* возможностью интеграции в клеточный геном и синхронной с ним репликации.

**Классификация и таксономия вирусов.** Вирусы составляют царство Vira, которое подразделено по типу нуклеиновой кислоты на два подцарства - рибовирусы и дезоксирибовирусы. Подцарства делятся на семейства, которые в свою очередь подразделяются на роды.

В качестве таксономических характеристик первостепенное значение придается типу нуклеиновой кислоты и ее молекулярно-биологическим признакам: двунитевая, однонитевая, сегментированная, несегментированная, с повторяющимися и инвертированными последовательностями и др. Однако в практической работе, прежде всего, используются характеристики вирусов, полученные в результате электронно-микроскопических и иммунологических исследований: морфология, структура и размеры вириона, наличие или отсутствие внешней оболочки (суперкапсида), антигены, внутриядерная или цитоп-лазматическая локализация и др., также учитываются резистентность к температуре, рН, и т.д.

**II. Самостоятельная работа**

**Оснащение занятия:**

- куриные эмбрионы (свежие),

- смыв из носоглотки больного гриппом,

- шприцы с иглами,

- спиртовки,

- методические указания для самоподготовки студентов,

- таблицы,

- демонстрация: культура тканей, реакция нейтрализации,

- куриные эмбрионы (зараженные предварительно).

**Задание №1**

**Ознакомиться по демонстрационному материалу с реакцией нейтрализации. Записать схему постановки.**

**При постановке реакции необходимы ингридиенты**:

1. Культура тканей

2. Раствор для выращивания культуры тканей.

Исследуемый материал (смыв из носоглотки).

**Алгоритм действия:**

1. В 3 пробирки со средой Хенкса добавить культуру тканей (стерильно).

2. Пробирки поместить в термостат при 37. С на 24 часа.

3. Вынуть из термостата. Если культура тканей прижилась и растет, то цвет среды меняется с красного на желтый (продукты метаболизма перевиваемой культуры имеют щелочную среду).

4. Во все пробирки добавить по 1 мл вирусной культуры (смывы из носоглотки).

5. Добавить полиомиелитную сыворотку: по 0,5 мл,

 1. пробирка-тип 1.

 2. пробирка – тип 2.

 3. пробирка-тип 3.

6. Инкубировать в термостате 24 часа при 37\* С.

**Планируемые результаты:**

В той пробирке, где тип сыворотки соответствует типу вируса, произошла реакция нейтрализации вируса антителами полиомиелитной сыворотки, а значит, цвет индикатора питательной среды изменяется снова на красный.

**Задание № 2**

**Заразить куриные эмбрионы.**

**Алгоритм действия**

**1. Взять куриный девятидневный эмбрион, и глядя в овоскоп, найти зародыш. При заражении соблюдать правила асептики и антисептики!**

**2. Набрать в шприц исследуемый материал,**

**3. Обработать место будущего прокола на яйце как операционное поле (спиртом, йдом, спиртом),**

**4. Копьём пробить отверстие в скорлупе,**

**5. Ввести исследуемый материал в аллантоисную полость яйца или в желточный мешок,**

**6. Залить отверстие расплпвленным воском, поместить посев в термостат.**

***Планируемые результаты:***

Вирус, находящийся в смыве из носоглотки, размножается на клетках эмбриона и таким образом, накапливается. Используется для серологической диагностики вирусных инфекций.

**Задание № 3**

**Заполнить таблицу. « Патогенные для человека ретровирусы».**

|  |  |
| --- | --- |
| Вирусы. | Тип поражений. |
| НТtV-1 | Т-клеточные лимфомы и миелопатии. |
| HTtV-2 | Хронические лимфолейкозы. |
| ВИЧ-1 | ВИЧ-инфекцию |
| ВИЧ-2 | Близок к ВИЧ-1, также способен вызывать ВИЧ- инфекцию. Встречается в Западной Африке. |

**Задание №4**

**Записать особенности забора материала и культивирование вирусов:**

**Цель исследования**: выявление вируса и определение его типа; определение в сыворотке крови антител; серодиагностика.

Материал для исследования: отпечатки слизистой оболочки носовой полости (в острой стадии заболевания); носоглоточное отделяемое; кровь; содержимое папул; везикул, пустул; кал больных; кусочки головного и спинного мозга, содержимое тонкого и толстого кишечника, лимфоузлы (секционный материал).

**Задание №5**

**Забрать отпечатки слизистой оболочки носовой полости (учебная процедура)**

Алгоритм действия: ватным тампоном удалить из носовой полости выделения, корки и ввестит в носовой вход узкую с отполированными краями пластину из стекла или прозрачной пластмассы. Предварительно пластину тщательно вымывть и обезжирить эфиром. Введенную пластинку прижатьт к нижней поверхности носовой полости . Затем ее осторожно вывести наружу. Провести риноцитоскопическое исследование. Это исследование является ориентировачным. Отпечатки, взятые с поверхности нижней носовой раковины, окраситьт по Романовскому и микроскопировать. Планируемые результаты: при гриппе в препаратах обнаруживает измененные цилиндрический эпителий, клетки которого лишены ресничек. Кроме того, в цилиндрических клетках находят включения, окрашивающиеся по Романовскому в фиолетовый цвет. Изменения цилиндрического эпителия и выявления включения обнаруживают обычно в первый период заболевания. К ускоренным методам относится метод иммунофлюорисцеции. Мазки отпечатки обрабатывают иммунофлюорисцентными типоспецифическими антисыворотками. Наличие вируса гриппа вызывает в эпителиальных клетках желто-зеленое свечение.

**Задание №6**

**Забрать на исследование носоглоточное отделяемое (учебная процедура)**

1 способ: Больному предложить прополоскать горло 10-15 мл изотонического раствора натрия хлорида. Промывание производят 2-3 раза. Смывы собрать в широкогорлую банку. Затем сухим тампоном протереть слизистую оболочку задней стенки глотки и носовые ходы.

**Закрепление: Тест - контроль**

**Задание на дом:**

1. составить по 1 ситуационной задаче к разделу « Вирусы»,

 2. составить конспект: « Классификация вирусов».

**Литература**: протокол практическоно занятия № 9.

 К.Ф. Черкесс, Микробиология с ТМИ, стр. 348- 390.

 Материалы интернета.

**ТЕСТ - КОНТРОЛЬ**

**1. ФЕНОМЕН ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ:**

а)вирусов, не дающих отчетливого цитопатического действия;

 б) вирусов с отчетливыми проявлениями цитопатического действия;

 в) вируса везикулярного соматита;
 г) ДНК-содержащих вирусов.

**2. К ОСНОВНЫМ ТАКСОНОМИЧЕСКИМ КАТЕГОРИЯМ, ИСПОЛЬЗУЕМЫМ В ВИРУСОЛОГИИ, ОТНОСЯТСЯ**:
 а) семейства;
 б) трибы;
 в) роды;
 г) подсемейства;
 д) отделы.
**3. В ОСНОВУ КЛАССИФИКАЦИИ ВИРУСОВ ПОЛОЖЕНЫ СЛЕДУЮЩЕ**

 **КАТЕГОРИИ**:
 а) тип нуклеиновой кислоты;
 б) размер и морфология вирионов;
 в) тинкториальные свойства;
 г) наличие суперкапсида;
 д) антигенные свойства.
**4. ОСНОВНЫМИ ТИПАМИ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЯВЛЯЮТСЯ**:
 а) первичные;
 б) вторичные;
 в) полуперевиваемые;
 г) перевиваемые.
**5. ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ИНТЕРФЕРОН ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ**:
 а) диагностики вирусных инфекций;
 б) определения уровня естественной резистентности в РНГА;
 в) лечения и экстренной профилактики вирусных инфекций.
**6. ВИРУС ГРИППА ПРИНАДЛЕЖИТ К СЕМЕЙСТВУ**:
 а) ортомиксовирусов;
 б) рабдовирусов;
 в) ретровирусов;
 г) аденовирусов.
**7. ПОЛИВАЛЕНТНАЯ ГРИППОЗНАЯ СЫВОРОТКА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ**:
 а) экстренной профилактики;
 б) серодиагностики;
 в) экспресс-диагностики;
 г) лечения.
**8. ЖИВАЯ ПРОТИВОВИРУСНАЯ ВАКЦИНА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ**:
 а) профилактики;
 б) серодиагностики;
 в) экспресс-диагностики;
 г) лечения.

**9. СЕМЕЙСТВО Orthomixoviridae ВКЛЮЧАЕТ СЛЕДУЮЩИЕ РОДОВЫЕ**

 **ТАКСОНЫ**:
 а) Influenza;
 б) Pneumovirus;
 в) Enterovirus;
 г) Rhinovirus;
 д) Rotavirus.
**10. ВСЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВА Orthomixoviridae ЯВЛЯЮТСЯ**:
 а) сложными вирусами;
 б) (-) РНК вирусы;
 в) не имеют внечеловеческого резервуара;
 г) возбудители ОРЗ;
 д) имеют нуклеокапсид спиралевидной симметрии.

**Занятие № 10**

**Тема: Проведение вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ДНК - вирусами.**

**Цель**: систематезировать знания о классификации вирусов и заболеваниях, вызываемых ДНК - вирусами

**Тип занятия:** практическое и элементами УИРС.

**Задачи:** - зарисовать основные формы вирионов ДНК – вирусов,

 **Планируемые результаты**:

**Знать:**

 - что такое ДНК – вирусы,

 - методы культивирования вирусов,

 - терминологию;

 **Уметь**:

 - проводить серологическую диагностику вирусных инфекций,

 - учитывать результат реакции

 - работать с учебной и справочной литературой.

 **Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: ДНК – вирусы, мРНК, «клеточная фабрика», синтез, интерграция,

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:** Если вирусы действительно являются мобильными генетическими элементами, получившими «автономию» (независимость) от генетического аппарата их хозяев (разных типов клеток), то разные группы вирусов (с разным геномом, строением и репликацией) должны были возникнуть независимо друг от друга. Поэтому построить для всех вирусов единую родословную, связывающую их на основе эволюционных взаимоотношений, невозможно. Принципы «естественной» классификации, используемые в систематике животных, не подходят для вирусов.

У некоторых ДНК-содержащих вирусов сам цикл репродукции в клетке не связан с немедленной репликацией вирусной ДНК; вместо этого вирусная ДНК встраивается (интегрируется) в ДНК клетки-хозяина. На этой стадии вирус как единое структурное образование исчезает: его геном становится частью генетического аппарата клетки и даже реплицируется в составе клеточной [ДНК](http://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/biologiya/DNK-IDENTIFIKATSIYA.html) во время деления клетки.

**Самостоятельная работа студентов**

**Задание №1**

* 1. Ознакомиться с ДНК – вирусами, записать их харатеристики.

**Аденовирусы.**

 Имеют наиболее важное клиническое значение, так как способны вызывать острые заболевания органов дыхания и конъюнктивы. Аденовирусы вступают во взаимодействие с клетками организма хозяина, вызывая три вида повреждений:

1) могут проходить в клетках полный цикл репликации, вызывая их гибель (например, в эпителиальных клетках);

2) в лимфоидных клетках могут существовать в виде латентной или хронической инфекции. При этом за пределы клеток выделяется незначительное количество вирусов;

3) могут участвовать в онкогенной трансформации клеток.

 Аденовирусные инфекции человека убиквитарны. Первичное инфицирование человека происходит обычно в первые годы жизни. Серотип аденовируса и характер заболевания тесно связаны с возрастом больного.

 В неэпидемический период примерно в половине случаев инфицирование аденовирусом не приводит к заболеванию. В то же время возникновение 10 % респираторных заболеваний у детей связано с аденовирусом. Эти заболевания протекают в форме фарингита или трахеита.

А. Кератоконъюнктивит встречается у взрослых и протекает как эпидемическая вспышка. Инкубационный период может достигать 4—24 дней, а продолжительность заболевания — 1—4 нед.

Б. геморрагическй цистит,

 3 диарею у детей,

1. энцефалит и минингоэнцефалит.

**Varicella/zoster virus (VZV).** Вирус varicella/zoster вызывает два различных заболевания: ветряную оспу и опоясывающий лишай (herpes zoster).

**Ветряная оспа** (varicella) является убиквитарным (распространенным) и чрезвычайно контагиозным заболеванием, которое характеризуется сезонным возникновением и течет в виде эпидемий. Единственным резервуаром вируса ветряной оспы являются люди. Ежегодно в мире ветряной оспой заболевают 3—4 млн человек. До 90 % заболевших составляют дети в возрасте до 13 лет (школьный возраст). Среди лиц старше 15 лет к вирусу чувствительны не более 10%.

Самым серьезным осложнением ветряной оспы считается энцефалит, который возникает у 0,1—0,2 % больных и особенно тяжело протекает у взрослых. Летальность при этом осложнении ветряной оспы достигает 5—20 %, а у 15 % выживших наблюдаются остаточные явления. Кроме того, ветряная оспа может осложниться пневмонитом.

**Возбудителя опоясывающего лишая (herpes zoster**) после первичной инфекции находят в ганглиях дорсальных корешков спинного мозга, в которых обнаруживают сателлитоз, лимфоцитарную инфильтрацию и деструкцию ганглиозных клеток. В клетках ганглиев находят также внутриядерные включения. Herpes zoster встречается у людей всех возрастов, однако, до 20 % заболевших люди старческого возраста.

Herpes zoster, или опоясывающий герпес (лишай), характеризуется односторонними пузырьковыми высыпаниями на коже грудной или поясничной области и сопровождается сильными болями. К необычной локализации herpes zoster относят веки, кончик носа, проекции верхнечелюстной и нижнечелюстной ветвей тройничного нерва (язык, мягкое и твердое небо). После исчезновения кожных проявлений до 50 % больных страдают постгерпетическими невралгиями.

Наиболее серьезными осложнениями опоясывающего герпеса являются менингоэнцефалит и энцефалит.

**Цитомегаловирус** вызывает врожденный синдром у новорожденных, который нередко является причиной их смерти. У детей и взрослых цитомегаловирус вызывает цитомегаловирусный мононуклеоз. Диагноз цитомегаловирусной инфекции можно поставить только лабораторным путем.

Заболевания, вызываемые цитомегаловирусом, чаще всего встречаются в Африке и Юго-Восточной Азии. Заражение обычно происходит при переливаниях крови и половых контактах (особенно гомосексуальных). Заражение чаще всего происходит через шейку матки и сперму. Через шейку матки возможно также заражение новорожденного при прохождении его через родовой канал. Существует также связь между цитомегаловирусной инфекцией и СПИДом. Так, 30—40 % гомосексуалистов, в семени которых обнаружен цитомегаловирус, являются ВИЧ-положительными.

У выживших больных некоторое время наблюдаются геморрагическая пневмония, желтуха, гепатоспленомегалия. Однако остаточные явления в виде микроцефалии, отставания в умственном развитии, двигательных нарушений могут проявиться в более поздний период.

инфекционным мононуклеозом.

**3. Паповавирусы.** Разновидность паповавирусов — папилломавирусы человека — широко распространены среди населения и вызывают развитие эпителиальных опухолей кожи и слизистых оболочек, а также злокачественных опухолей половых органов.

Наиболее частым проявлением инфекции папилломавирусами служат кожные бородавки. Общие бородавки представляют собой хорошо отграниченные папулоподобные образования с шероховатой поверхностью (гиперкератоз). Они могут возникать на руках, между пальцами, вокруг ногтей и реже на слизистых оболочках.

Глубокие подошвенные бородавки встречаются у молодых людей и лиц старческого возраста и состоят из пучков кератиновых волокон и кровоточащих кровеносных сосудов.

**4. Гепаднавирусы**. Резервуаром вируса гепатита В (HBV) является человек. Острый и хронический гепатит В представлен комплексом клинических признаков: некроза гепатоцитов, воспаления и регенерации ткани печени, возникающих в ответ на инфицирование гепатоцитов вирусом гепатита В.

**Заполнить таблицу**. «Заболевания вызванные энтеровирусами».

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Заболевания** | **Полио****вирусы** | **Коксаки****Гр+ ГрВ** | **Вирус ЕСНО** | **Неклассифици-рованные** |
| 1.Безсимптомные инфекции. | + | + | + | + |
| 2.Вирусные менингиты. | + | + | + | + |
| 3.Параличи. | + | + | + | - |
| 4.Лихорадка с сыпью. | - | + | + | + |
| 5.ОРВИ. | - | + | + | + |
| 6.Миоперикардит. | - | + | + | - |
| 7.Орхит. | - | - | + | - |

**Закрепление:**

**Ответить на впросы:**

1. Назовите семейства вирусов, относящихся к ДНК - вирусам

2. Перечислите заболевания вызванные энтеровирусами.

3. Перечислите, какие клинческие картины могут вызвать энтеровирусы.

4. Дайте характеристику ЛНК – вирусам.

5. Прясните, что такое экспресс – диагностика вирусных инфекций.

6. Перечислите вирусы, вызывающие гепатиты.

7. Расскажите о специфической профилактике гепатита В.

8. Поясните, что такое культура клеток.

**Составить алгоритм действия:**

1. Реакции непрямой гемагглютинации с эритроцитарным полиовирусним диагностикумом

 2. Ннепрямой реакции иммунофлюоресценции,

3. Реакцию, иммунофлюоресценции.

 4. Подготовка к кариологическому анализу,

**Задание на дом:** Составить по 5 тестов к теме ДНК – вирусы.

**Литература**: протокол практического занятия № 10

 **К**.Ф Черкесс, микробиология с ТМИ, стр. 333-341

**Занятие № 11**

**Тема: Проведение вирусологической диагностики заболеваний вызываемых РНК - вирусами.**

**Цель:**

 ознакомиться с основными представителями семейства РНК – вирусов.

**Тип занятия:**

 **практическое и элементами УИРС.**

**Задачи: -**

**Планируемые результаты:**

**Знать:**

 - что такое РНК - вирусы,

 - диагностический титр

 - терминологию;

 **Уметь:**

 **-** готовить ингредиенты для реакции агглютинации

 - ставить реакцию нейтрализации

 - соблюдать ТБ при постановке реакций

 - учитывать результаты исследования.

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

 - сборник ситуационных задач.

**Мотивация**: у РНК-содержащих вирусов генетическая информация закодирована в РНК таким же кодом, как в ДНК всех других вирусов и клеточных организмов. Вирусные РНК по своему химическому составу не отличаются от РНК клеточного происхождения, но характеризуются разной структурой. Наряду с типичной однонитевой РНК у ряда вирусов имеется двунитевая РНК. При этом она может быть линейной и кольцевой. В составе однонитевых РНК имеются спиральные участки типа двойной спирали ДНК, образующиеся вследствие спаривания комплементарных зотистых оснований.

 Однонитевые РНК в зависимости от выполняемых ими функций разделяют на две

 группы.

**Самостоятельная работа студентов**:

**Задание № 1**

 **Охарактеризовать инфекции, вызываемые РНК-содержащими вирусами**

**1. Реовирусы.** Возбудителем американской горной клещевой (колорадской клещевой) лихорадки является вирус, относящийся к семейству реовирусов. Колорадская клещевая лихорадка встречается в горах, где распространен клещ Dermacentor andersoni (штаты Колорадо, Вайоминг, Монтана, Айдахо, Юта, Южная Дакота, Нью-Мексико, Калифорния, Орегон, Вашингтон, Альберта и Британская Колумбия). Пик заболеваемости приходится на конец мая — начало июля — период наибольшей активности взрослых клещей.

Вирус обладает тропизмом к элементам костного мозга, особенно к эритробластам. Эритроциты и ретикулоциты, содержащие вирус, попадают в кровоток. Так как вирус находится внутри клеток, он защищен от распознавания иммунокомпетентными клетками.

 Заболевание характеризуется внезапным началом и сопровождается высокой лихорадкой, ознобами, сонливостью, головной болью, миалгией, светобоязнью и рвотой. Оно опасно развитием осложнений: менингоэнцефалита, геморрагического синдрома, перикардита, миокардита, пневмонии.

Клинический диагноз заболевания основан на его эпидемиологических особенностях, а специфический диагноз можно поставить путем выявления антигена в эритроцитах.

**Ротавирус** является основным возбудителем вирусного гастроэнтерита — одного из наиболее распространенных заболеваний в мире. Ежегодно в Азии, Африке и Латинской Америке наблюдается 3—5 млрд случаев гастроэнтерита. В развивающихся странах около 10—20 % смертей вследствие гастроэнтерита обусловлены ротавирусами.

 Кроме ротавируса, вирусный гастроэнтерит вызывают **калицивирусы, аденовирусы, астровирусы и некоторые неклассифицируемые вирусыирусы.**

Репликация ротавируса происходит в эпителиальных клетках, выстилающих слизистую оболочку тонкой кишки. Клинические проявления заболевания включают лихорадку, рвоту и диарею с последующей дегидратацией организма.

Ротавирусная инфекция может быть причиной развития асептического менингита, некротизирующего энтероколита, острого миозита, абсцесса печени, пневмонии, синдрома внезапной детской смерти и болезни Крона.

Для распознавания ротавируса производятся специальные наборы, имеющие высокую степень специфичности.

**2. Флавовирусы.** Семейство флавовирусов включает 67 разновидностей вирусов, 29 из которых вызывают заболевания человека. Большинство флавовирусов переносится москитами или клещами. Инфекции, вызываемые флавовирусами, включают неспецифические лихорадки, лихорадку с артралгией и сыпью, геморрагическую лихорадку и инфекцию центральной нервной системы (асептический менингит и энцефалит).

Патогенез заболеваний связан с прямым повреждением вирусом зараженных клеток и последующим развитием воспаления.

Желтая лихорадка встречается в тропических районах Америки и Африки. Заболеваемость желтой лихорадкой резко увеличилась в последние годы. Переносчиками вируса являются москиты и некоторые виды комаров. Вирус попадает под кожу или в мелкие сосуды со слюной москита.

Появление острой почечной недостаточности может быть обусловлено снижением почечной перфузии, а затем некрозом эпителия почечных канальцев. Кроме того, вирусный антиген обнаружен в почечных клубочках.

**Лихорадка денге** чаще всего встречается в Юго-Восточной Азии, Индии и американских тропиках. Ежегодно в мире насчитывают до 100 млн случаев заболевания лихорадкой денге.

Патогенез геморрагической лихорадки денге и наиболее тяжелой ее формы — шокового синдрома денге — иммунологически обусловлен. Репликация вируса происходит в моноцитах-макрофагах, которые имеют Fc-рецепторы. После распознавания цитотоксическими Т-лимфоцитами пораженных вирусом моноцитов начинается выброс цитокинов, обладающих вазоактивным и прокоагулянтным действием (интерлейкины, ФИО, тромбоцитактивирующий фактор, урокиназа), активация комплемента и выброс -у-интерферона, который регулирует экспрессию Fc-рецепторов и усиливает антителозависимую репликацию вируса. Вазоактивные медиаторы вызывают нарушения кровообращения и диссеминированную внутрисосудистую коагулопатию.

 Клинически лихорадка денге проявляется лихорадкой с ознобами, головной болью, ретроорбитальными и пояснично-крестцовыми болями, миалгиями, болями в суставах и костях, генерализованной лимфаденопатией. При лабораторных исследованиях обнаруживаются лейкопения (нейтропения) и тромбоцитопения.

Флавовирусные энцефалиты делятся на японский (комариный) энцефалит, русский весенне-летний клещевой (дальневосточный, русский весенне-летний таежный) энцефалит и энцефалит Сент- Л у и (американский энцефалит).

В основе развития энцефалита лежит проникновение вируса в центральную нервную систему после периода его экстраневральной репликации. Инфицирование мозга ведет к деструкции нейронов, некрозу, нейрофагии, периваскулярной аккумуляции макрофагов и лимфоцитов. Поражение затрагивает кору большого мозга, ствол, мозжечок, спинной мозг и мягкие мозговые оболочки.

 Энцефалитом Сент-Луи страдают люди старческого возраста, а японским энцефалитом — дети и люди пожилого возраста.

Экстраневральное поражение возникает вслед за попаданием вируса в организм со слюной москита или клеща. Начальная репликация вируса происходит в регионарных лимфатических узлах. Затем в процесс вовлекаются лимфоидная ткань, скелетные мышцы, соединительная ткань, миокард, эндокринные и экзокринные железы.

Вирус гепатита С является одним из возбудителей хронического вирусного гепатита, в том числе посттрансфузионного.

**3. Парамиксовирусы.** Вирусы парагриппа обнаружены в» всем мире и вызывают распространенные инфекции у людей любого возраста.

Вирус проникает в организм через слизистые оболочки носа и глотки и может

поражать также гортань, трахею и бронхи, вызывать ателектазы в легких и пневмонию.

 Помимо острых респираторных заболеваний, парамиксовирусы вызывают воспалениесреднего уха, фарингит, конъюнктивит.

Вирус эпидемического паротита вызывает эпидемический паротит — острую генерализованную вирусную инфекцию, которая поражает детей школьного возраста и подростков. Основным симптомом заболевания является негнойное воспаление околоушных слюнных желез. Заражение происходит воздушно-капельным путем при попадании возбудителя на слизистую оболочку носа или рта.

При исследовании слюнной железы, пораженной вирусом, в ней обнаруживают диффузный интерстициальный отек, серозно-фибринозный экссудат, пронизанный мононуклеарными лейкоцитами. Нейтрофилы и тканевый детрит аккумулируются в протоках слюнной железы. Протоковый эпителий слущен. Многоядерные синцитиальные структуры и внутрицитоплазматические эозинофильные включения можно выявить в культуре ткани инфицированной слюнной железы.

Наиболее опасными осложнениями эпидемического паротита являются энцефалит и менингоэнцефалит. Кроме того, описаны эпидидимоорхит, оофорит и панкреатит.

Респираторно-синцитиальный вирус — главная причина заболеваний нижних дыхательных путей у детей младшего возраста. Эти заболевания могут проявляться в виде пневмонии, бронхиолита и трахеобронхита. Они часто сопровождаются воспалением среднего уха.

 При бронхиолите обнаруживаются лимфоцитарная перибронхиальная инфильтрация, отек стенок бронхиол и окружающих тканей, а также некроз эпителия бронхиол. Просвет бронхиол закрыт спущенным эпителием и секретом, содержащим слизь. Одновременно развиваются ателектазы. Нередко признаки бронхиолита и пневмонии сочетаются.

**Вирус кори вызывает корь** — весьма контагиозное вирусное заболевание, которое характеризуется кашлем, насморком, лихорадкой и макулопапулезной сыпью.

Вирус кори способен проникать через респираторный эпителий в слизистую оболочку дыхательных путей, где и происходит его репликация. Во время первичной виремии вирус с помощью лейкоцитов проникает в систему моноцитарных макрофагов (СМФ). После гибели инфицированных макрофагов происходят выброс вируса в кровь и его вторичный захват лейкоцитами (вторичная виремия). После вторичной виремии вся слизистая оболочка респираторного тракта оказывается вовлеченной в процесс. Вирус кори может быть непосредственной причиной крубронхиолита и пневмонии.

Наиболее важными осложнениями кори являются поражения дыхательного аппарата и центральной нервной системы, причем пневмония, сопровождающая корь, может быть обусловлена как прямым действием вируса кори на легкие, так и бактериальной суперинфекций. Энцефалит после кори может быть острым и хроническим.

**4. Рабдовирусы.** Бешенство — заболевание, вызываемоесрядом тесно связанных рабдовирусов. Заражение человека происходит чаще через слюну больной собаки при укусе.

Вирус бешенства является выраженно нейротропным. После инокуляции он, видимо, прилипает к поверхности мышечных клеток в том месте, где находятся никотиновые ацетилхолиновые рецепторы. Вирус способен проникать в периферические нервы.

Во время инкубационного периода в ацетилхолиновых рецепторах возле нервно-мышечных контактов происходит амплификация вируса до концентрации, достаточной для того, чтобы пересечь нервно-мышечное соединение и войти в нервную систему по немиелиновым чувствительным и двигательным терминалям. Вирусы проникают в центральную нервную систему по аксонам благодаря ретроградному аксоплазматическому току. Размножение вирусов происходит в телах нервных клеток спинного мозга. Распространение вируса по нервной системе осуществляется через синаптические связи с помощью аксонального транспорта и по межклеточным пространствам. Развивается быстропрогрессирующий энцефалит.

 В клиническом течении заболевания выделяют инкубационный период, продромальный период, период острых неврологических расстройств и кому.

 Большинство осложнений бешенства возникает в коматозный период и включает повышение внутримозгового давления, гипертензию, гипотензию, аритмии сердца, гипотермию.

 В подавляющем большинстве случаев заболевание заканчивается смертельным исходом.

**5. Филовирусы (марбургский вирус и вирус Эбола).** Геморрагическая лихорадка, вызываемая филовирусами, начинается остро и сопровождается головной болью и миалгией. Затем появляются тошнота, рвота, боли в животе, понос, боли в груди, кашель и фарингит. Заболевание проявляется также светобоязнью, лимфаденопатией, желтухой и панкреатитом. Позже развиваются делирий и кома.

При прогрессировании заболевания появляются петехии, кровоизлияния под кожей и в слизистых оболочках.

 Смерть больных наступает при явлениях диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и печеночной недостаточности. Смерть при заражении марбургским вирусом наступает у 25 % больных, а вирусом Эбола (суданский тип) — у 50 % больных, вирусом Эбола (заирский тип) — у 90 % больных.

Филовирусы обладают тропностью к эндотелиальным макрофагам и клеткам паренхиматозных органов, чем и объясняется тяжесть заболевания.

**6. Ортомиксовирусы.** Грипп — острое, обычно ограниченное во времени заболевание.

**7. Ретровирусы.**Важнейшим представителем этой группы вирусов является вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), заражение которым может привести к развитию синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД).

**8. Пикорнавирусы.** Пикорнавирусы делятся на четыре основные группы: афтовирусы, кардиовирусы, энтеровирусы и риновирусы. Энтеровирусы в свою очередь делятся на несколько подгрупп: полиовирусы, Коксаки-вирусы (группа А и В) и экховирусы.

 Полиовирусы вызывают полиомиелит — системное инфекционное заболевание,

 которое избирательно поражает центральную нервную систему и осложняется

развитием паралича. Заражение полиомиелитом происходит фекально-оральным

путем. Репликация вируса происходит в чувствительных к нему тканях глотки и дистальной части пищеварительного тракта. Через 1—3 дня после попадания в организм вирус обнаруживают в лимфоидной ткани подвздошной кишки.

После мультипликации в подслизистой лимфоидной ткани полиовирус проникает в регионарные лимфатические узлы (шейные, мезентериальные), возникает виремия.

 Вирус может гематогенным путем попадать в СМФ (печень, селезенка, костный мозг, лимфатические узлы). Репликация вируса в СМФ сопровождается еще более значительной виремией. Массивная виремия приводит к распространению вируса по организму и проникновению в органы-мишени (мозговые оболочки, сердце и кожу). В этих тканях возникают некротические и воспалительные изменения.

Механизм проникновения вируса в центральную нервную систему остается невыясненным. Считают, что полиовирус может проникать из мышц в центральную нервную систему по периферическим нервам.

 **9.** Человек - тупиковый хозяин инфекционного цикла. Ареновирусы вызывают

геморрагические лихорадки.

**Филовирусы.**

Вызывают тяжелые геморрагические лихорадки (болезнь Марбург и лихорадку - Эбола)

**10. Коронавирусы.**

 А. У человека доминируют респираторные коронавирусные инфекции, регистрируемые повсеместно как «банальная простуда» или ОРВИ. К возбудителю чувствительны все возрастные группы, поэтому для инфекции характерно образование семейных очагов. Источник- больной человек, путь передачи – воздушно- капельный.

Б.Кишечные поражения протекают по типу гастроэнтеритов, чаще встречаются в детских учреждениях и больницах.

**11. Реовирусы.**

Семейство объединяет «голые» вирусы сферической формы, широко распространены в природе. Вызывают различные лихорадки.

1. **Неклассифицированные вирусы**. Полиовирус поражает двигательные и автономные нейроны. Разрушение нейронов сопровождается появлением воспалительного инфильтрата (полиморфно-ядерные лейкоциты, лимфоциты и макрофаги). Сильнее всего повреждаются серое вещество передних рогов спинного мозга и двигательные ядра моста и мозжечка.

 Клинические симптомы заболевания зависят от тяжести повреждений центральной нервной системы.

Наиболее частым осложнением полиомиелита является дыхательная недостаточность, которая возникает в связи с развитием паралича дыхательных мышц и обструкцией верхних дыхательных путей вследствие вовлечения ядер черепных нервов и повреждения дыхательного центра.

Среди осложнений выделяют также миокардит и нарушения желудочно-кишечного тракта (кровоизлияния, паралич подвздошной кишки, расширение желудка).

А. Вирус гепатита А является возбудителем острого инфекционного заболевания

печени, которое чаще всего поражает детей.

Риновирусы распространены по всему миру и являются возбудителями острого сезонного простудного заболевания, которое проявляется в виде насморка.

Полагают, что легкое повреждение эпителия, выстилающего слизистую оболочку носа, является пусковым механизмом для выброса медиаторов, что и является истинной причиной заболевания. Видимо, главную роль в развитии симптомов заболевания играют медиаторы брадикинин, лизилбрадикинин, простагландин, гистамин и интерлейкин-1, а также парасимпатические и а-адренергические нервы. Как правило, заболевание поражает молодых людей, а его продолжительность не превышает 7 дней.

Среди осложнений заболевания выделяют синуситы, воспаление среднего уха, острый бронхит.

 Б. Вирус гепатита Д. Вирус выделен в начале 70-х годов во время тяжелой вспышки сывороточного гепатита. В настоящее время установлено, что возбудитель- дефектный РНК- содержащий вирус.

 **13. Астровирусы.**

 Выделен из испражнений детей больных диареями в 1975 году.

А. Вирус Норвояк-вызывает гастроэнтериты.

Б. Возбудители медленных (неконвеционных) инфекций.

Эта группа вирусов, способных вызывать развитие подострых, прогрессирующих поражений ЦНС. Среди болезней человека встречаются:

В. Куру (смеющаяся смерть).

Г. Болезнь Кройтуфельдта - Якоба.

Д. Синдром Герстмана (наследственная патология).

 Особенность этих заболеваний почти полное отсутствие иммунных реакций. Эти заболевания всегда заканчиваются смертью.

Е. Амиотрофический лейкоспонгиозприонная инфекция под острых энцефалопатий.

 Поражение характеризуется прогрессирующими атрофическими парезами скелетных мышц и расстройством дыхания. Инкубационный период 3-14 лет, средний возраст больных 25-70 лет. Процесс прогрессирует и заканчивается смертью.

**III. Закрепление.**

**Ответить на вопросы:**

1. Охарактеризовать короновирусы

* 1. Объясните термин « неклассифицированные вирусы**.**
	2. Охарактеризуйте ДНК – вирусы.
	3. Объясните, что такое « медленные» вирусы.
	4. Назовите заболевания, вызываемые « медленными» вирусами.
	5. Расскажите, на какие группы делятся пикорновирусы.
	6. Назовите заболевания, вызываемые риновирусами.
	7. Назвать возбудителя бешенства. Рассказать об источниках инфекции и путях передачи бешенства.
	8. Рассказать об особенностях специфической профилактики бешенства.
	9. Назовите вирус – возбудитель геморрагической лихорадки.
	10. Рассказать о заболевании.

**IV. Домашнее задание:** составить по 1 ситуационной задаче к разделу ДНК – вирусы.

**Литература:** протокол занятия № 11

 **К.**Ф Черкесс, микробиология с ТМИ, стр.347- 354.

**Занятие № 12**

**Тема: Проведение вирусологической диагностики простого и опоясывающего герпеса.**

**Цель:**

 научиться диагностировать герпес

**Тип занятия**:

практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

 - зарисовать вирус герпеса, руководствуясь электронной презентацией,

 - составить схему диагностики герпеса

**Планируемые результаты**:

**Знать:**

 - что такое герпес, его виды.

 - терминологию;

**Уметь:**

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия**:

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

**Вводимые понятия**: **первичный** и **рецидивирующий** герпес Геродонт, Гиппократ, Авиценна, Парацельс

**Мотивация:** Герпес (от греческого herpo - ползти) известен в медицине почти 25 веквеков. Лихорадочный герпес был описан Геродотом еще в 100 г. до н.э. Упоминания о нем встречаются в работах таких знаменитых врачей прошлого, как ГГиппократ, Авиценна и Парацельс.

 И в наше время практически любой врач сталкивается с заболеваниями, вызванными вирусами семейства Herpesviridae. На сегодняшний день известно 8 аантигенных серотипов вирусов герпеса: вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1 и ВПГ-2), вирус varicella zoster, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирусы герпеса человека (ВГЧ) 6, 7 и 8-го типов. Герпес-вирусы широко распространены в человеческой популяции заболевания имеет большое значение для современного лечения. Возбудители относятся к семейству РНК – вирусов

**1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь**:

  **Простой герпес (Herpes simplex)** - распространенное вирусное заболевание кожи и слизистых оболочек, вызываемое вирусами простого герпеса 1-го и 2-го типов, которые проникают в организм человека при контакте с больным или вирусоносителем через поврежденную кожу или слизистые оболочки. Передается контактным (в том числе половым), воздушно-капельным и трансплацентарным путем. Характеризуется появлением сгруппированных везикул на отечно-эритематозном фоне. Заболевание склонно к рецидивированию.

   **Вирус простого герпеса** - наиболее типичный представитель семейства герпес-вирусов, состоит из трех основных компонентов: нуклеоида в центре, капсида, окружающего ядро вириона, и наружной оболочки, в которую заключены остальные структуры вируса. Длительность цикла репродукции вируса простого герпеса - около 10 ч.

Обычно ребенок трансплацентарно получает от матери антитела к вирусу простого герпеса, их титр значительно снижается к концу 1-го года жизни, а к 3-му году они полностью выводятся из организма, что приводит к первичному инфицированию вирусом при контакте с ним. У 80-90% людей данное заражение протекает бессимптомно, но в ряде случаев развивается **первичный герпес** - остро возникающее заболевание при первом контакте человека с вирусом простого герпеса на фоне отсутствия специфических антител к данному вирусу. Редко он развивается у взрослых. После исчезновения клинических проявлений первичного герпеса или после бессимптомного течения инфекция переходит в латентную форму, когда вирус находится в неактивном состоянии в нервных ганглиях. В это время начинается выработка антител к вирусу простого герпеса, несмотря на наличие, которых под воздействием факторов, снижающих иммунитет, возникают рецидивы заболевания с различными интервалами от нескольких дней до нескольких месяцев и даже лет.    Таким образом, принято выделять **первичный** и **рецидивирующий** герпес.

### Первичный герпес:

   Чаще всего первичный герпес протекает в виде **герпетического гингивостоматита**. Обычно он наблюдается у детей в возрасте до 5 лет, однако возможно его развитие у детей старшего возраста, подростков и крайне редко у взрослых. Заболевание начинается остро с появления единичных или множественных везикул на любом участке слизистой оболочки ротоглотки. Быстро вскрываясь, пузырьки образуют болезненные эрозии, которые затем покрываются белесоватым налетом без стадии корок. Слизистая оболочка десен отечна, резко гиперемирована, иногда с цианотичным оттенком, резко болезненна. Выраженный болевой симптом мешает приему пищи и жидкости. Отмечают повышение температуры до 39оС, лимфаденопатию, явления интоксикации. Постепенно явления воспаления уменьшаются, эрозии эпителизируются от периферии к центру. В зависимости от площади поражения время, необходимое для полного регресса высыпаний, может быть различным, но оно не превышает 2-3 нед.

Значительно реже, но крайне тяжело и часто с летальным исходом протекает **первичный герпес новорожденных**. Заражение ребенка обычно происходит при рождении во время прохождения по родовым путям, если у матери имеются клинические проявления генитального герпеса, или внутриутробно при разрыве плодного пузыря. Данная форма развивается при массивном обсеменении кожных покровов новорожденного вирусом простого герпеса. При этом имеющиеся у ребенка материнские антитела не могут предотвратить вирусемии. Тяжесть этой формы первичного герпеса связана с поражением вирусом простого герпеса жизненно важных органов. Чаще всего страдают ЦНС (герпетический менингоэнцефалит), печень, селезенка, бронхи, легкие, надпочечники. Они могут быть как единичными, так и распространенными, сливающимися между собой. В начале появляются отек и гиперемия.   Тяжелой формой первичного герпеса является **герпетическая или варицеллиформная экзема Капоши**, при которой летальность ранее достигала 40%, но после появления синтетических нуклеозидов количество летальных случаев значительно снизилось. Заболевание нередко протекает тяжело, с повышением температуры до 39-40оС, интоксикацией, лимфаденопатией. Вначале везикулы возникают на фоне воспалительных изменений кожи, вызванных основным заболеванием. Обычно они группируются, имеют размер от просяного до чечевичного зерна и пупкообразное вдавление в центре, что делает клиническую картину похожей на ветряную оспу. Содержимое везикул быстро становится гнойным, а некоторых - геморрагическим. У женщин он протекает в виде первичного герпетического вульвовагинита, иногда возможно вовлечение шейки матки (герпетический цервицит). Характерно появление отека и гиперемии в области гениталий, на фоне чего образуются сгруппированные везикулы, некоторые с мутноватым содержимым. После вскрытия пузырьков образуются обширные эрозии с округлыми очертаниями, которые могут сливаться между собой и трансформироваться в неглубокие болезненные язвы.   **Первичный герпес ануса** развивается преимущественно у гомосексуалистов и у женщин после аногенитальных контактов. На фоне выраженной отечности и гиперемии появляется множество сгруппированных везикул вокруг анального отверстия и слизистой оболочки сфинктера. После вскрытия образуются болезненные мокнущие эрозии, которые постепенно эпителизируются. При поражении прямой кишки, возможно ее изъязвление. При первичном герпесе ануса отмечаются повышение температуры, тенезмы, выделения из прямой кишки.

### Рецидивирующий герпес   по сравнению с первичным имеет меньшую продолжительность и интенсивность клинических проявлений. Частота рецидивов различна: от 1-3 раз в год до 5 раз в месяц. Редко возможно непрерывное течение заболевания, когда старые элементы еще не разрешились, а новые уже появляются. Рецидивирующая форма простого герпеса встречается гораздо чаще первичной и характеризуется разнообразной клинической картиной.

   Чаще всего встречается **типичная форма рецидивирующего герпеса** (герпес лица, гениталий, ягодиц, кистей). Независимо от локализации заболевание начинается с предвестников рецидива - субъективных ощущений в виде зуда, жжения, реже боли на коже или слизистой оболочке в местах появления высыпаний. Обычно временной интервал между появлением предвестников и формированием

очага поражения составляет около суток. Данные ощущения обычно невыраженные, однако большинство пациентов обращают на них внимание, особенно при частом. Таким образом, можно выделить **четыре последовательные стадии развития простого герпеса:**

1. эритематозную,
2. везикулезную,
3. корковую,
4. стадию клинического выздоровления.

 Общая продолжительность заболевания составляет в среднем 1-2 нед.

   При присоединении вторичной микрофлоры или при использовании раздражающих средств возможно образование единичных поверхностных рубчиков после разрешения высыпаний.

     У женщин рецидивы простого герпеса могут иметь четкую связь с менструальным циклом (менструальный герпес).

**Геморрагическая форма простого герпеса** встречается крайне редко и отличается от типичной лишь кровянистым содержимым везикул. Корочки, образующиеся при эволюции элементов, имеют темный цвет. Иногда может отмечаться умеренная болезненность в очагах поражения.

**Геморрагическо-некротическая форма простого герпеса** проявляется большим количеством сгруппированных пузырьков на отечно-гиперемированном фоне. Часть везикул при этом имеет выраженное геморрагическое содержимое. При разрешении этих элементов отмечаются явления некроза и образование рубцов. Болевые ощущения обычно отсутствуют. Регресс высыпаний довольно быстрый (14-16 дней).

   **Отечная форма** простого герпеса развивается на участках кожи с рыхлой подкожной жировой клетчаткой (губы, периорбитальная область, вульва, крайняя плоть). Эта форма простого герпеса может привести к развитию стойкой отечности, а частые рецидивы - к развитию элефантиазоподобного герпеса. Клиническая картина характеризуется едва заметными везикулами на фоне выраженной отечности.

      На фоне ВИЧ-инфекции возможно развитие крайне редкой формы простого герпеса - **герпетического фолликулита**. Он развивается практически исключительно у мужчин в зоне роста бороды и усов, реже в области шеи и груди.   Рецидивы могут протекать без образования пузырьков. Это так называемые**абортивные формы простого герпеса**, когда развитие клинической картины не идет дальше начальной стадии заболевания.

   **При пруригинозной форме простого герпеса** заболевание проявляется лишь субъективными ощущениями (зуд или чувство жжения) без образования каких-либо элементов на коже. Через сутки субъективные расстройства исчезают.

   Возможно развитие **системных форм рецидивирующего герпеса**. Они встречаются крайне редко на фоне выраженного иммунодефицита. Диагностика таких случаев затруднена, так как герпетическое поражение внутренних органов не имеет специфических признаков. Однако наблюдается одновременное появление кожных высыпаний вместе с висцеральным поражением. Возможно развитие хронического герпетического простатита, хронического гепатита, герпетического энцефалита и др.

Такое разнообразие клинических форм, вовлечение в патологический процесс не только кожи, слизистой оболочки, но и внутренних органов, возможность

летального исхода заставляют серьезно относиться к простому герпесу, который совсем не прост.

## Опоясывающий герпес

   **Опоясывающий лишай (herpes zoster)** - острое вирусное заболевание, для которого характерно поражение нервной системы и кожи. Проявляется группирующимися эритематозно-везикулезными высыпаниями по ходу нервных стволов, сопровождается сильными невралгическими болями.

Возбудитель - дерматонейротропный вирус, идентичный вирусу ветряной оспы, в связи, с чем получил название virus varicella zoster. Зрелые вирусные частицы, обнаруживаемые как в цитоплазме, так и вне клетки, имеют диаметр, имеют диаметр 150-200 нм. При морфологическом исследовании содержимого везикул и соскобов со дна эрозий, окрашенных по методу Романовского-Гимзы, обнаруживают гигантские клетки и эозинофильные внутриядерные включения.

Заболевание передается контактным и воздушно-капельным путем (как непосредственно от больного здоровому, так и опосредованно). Случаи заражения взрослых от больных опоясывающим лишаем чрезвычайно редки. При этом у детей, контактирующих с такими больными, может развиться ветряная оспа. Взрослые, общающиеся с ребенком, страдающим ветряной оспой, заболевают опоясывающим лишаем крайне редко. Имеются наблюдения трансплацентарной передачи вируса с последующим тяжелым течением инфекции и гибелью плода. Заболевание характеризуется спорадичностью, эпидемий не наблюдается. Число больных увеличивается зимой и осенью.

   В среднем через 3-5 дней после появления болей в очаге поражения возникают отечность и гиперемия кожи, на фоне которых образуются мелкие сгруппированные узелковые элементы, через непродолжительное время трансформирующиеся в везикулы с прозрачным содержимым. В последующем жидкость в пузырьках становится опалесцирующей, а затем мутной. Пузырьки обычно появляются "толчкообразно", всвязи, с чем в разгаре заболевания можно увидеть высыпания на разных этапах развития. Процесс занимает большую площадь, носит односторонний характер, локализуется по ходу нервов, чаще высыпания располагаются на коже грудной клетки, несколько реже встречаются в зоне иннервации тройничного нерва, на коже шеи, в пояснично-крестцовой области, по ходу лицевого, ушного, слухового нервов и на конечностях.

Практически у всех больных развивается **региональная лимфаденопатия**. Большая часть пузырьков ссыхается в корочки, а некоторые самопроизвольно или в результате травмирования покрышки вскрываются с образованием эрозий.

После отпадения корочек и эпителизации эрозий процесс завершается, оставляя после себя временное покраснение. Общая продолжительность болезни около 2-3 недель. Возможно присоединение вторичной пиококковой инфекции, что сопровождается повышением температуры тела, усилением воспалительных явлений, трансформацией серозного содержимого везикул в гнойное, образованием типичных пустулезных элементов.

Нередко наблюдаются отклонения от типичного течения болезни. Прежде всего, это относится к основному субъективному симптому - боли. Боль может возникать одновременно с появлением сыпи или появляться позже, чем высыпания на коже. У

некоторых пациентов, например, при приеме кортикостероидных препаратов, болей может не быть. Диагноз в таком случае можно поставить по характерному расположению высыпаний вдоль нервных стволов. Интенсивность болевых ощущений колеблется в широких пределах - от едва ощутимых парестезий, до изнуряющих, мучительных режущих болей, снимаемых на непродолжительный срок лишь введением наркотических средств. Возможно появление постгерпетических невралгий - состояний, при которых сильные боли сохраняются в течение длительного времени (месяцы и даже годы) после исчезновения высыпаний. Чаще подобные явления наблюдаются у пожилых людей.

   При тяжелом течении возможно образование язвенных и язвенно-некротических поражений, которые затем покрываются плотными корками. Подобные высыпания разрешаются в сроки от 1 до 1,5 мес.

   При **буллезной форме** опоясывающего герпеса пузырьки обычно не превышают размеров горошины, но иногда становятся значительно больше и достигают размера сливы.

   Наиболее тяжелая форма опоясывающего герпеса - **гангренозная**. Она наблюдается у ослабленных и пожилых больных с такими сопутствующими заболеваниями, как сахарный диабет, язвенная болезнь желудка и др. При этом отмечается появление везикул с геморрагическим содержимым и развитием долго не заживающих глубоких гангренозных язв, оставляющих после себя рубцы.

   При **абортивной форме** опоясывающий герпес протекает без образования пузырьков и ограничивается лишь появлением быстро исчезающих гиперемии и отечности, а иногда мелких папул на их фоне. Субъективные ощущения при данной

**Самостоятельная работа студентов**

**Оснащение занятия**

1. готовые микропрепараты;
2. микроскопы;
3. деманстрационная ПЦР;

**Задание № 1**

### Ознакомиться с данными гистологического исследования при простом герпесе. Промикроскопировать готовый препарат. Зарисовать.

    **Планируемые результаты**: при микроскопии гистологического препарата выявляются однополостные эпидермальные пузырьки в глубоких слоях эпидермиса. В верхних слоях эпидермиса обнаруживаются участки баллонирующей дегенерации, многокамерные пузырьки. В баллонирующих клетках выявляются внутриядерные включения, которые в ранней стадии диффузные, базофильные (они заполняют центр ядра), а позднее становятся эозинофильными, более плотными и отделяются от ядерной мембраны неокрашенным светлым венчиком. В дерме - воспалительная реакция с вовлечением сосудов, стенки которых инфильтрированы нейтрофильными гранулоцитами; периваскулярные инфильтраты состоят из лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов.

### Задание №2

### Дифференциальный диагноз простого герпеса

   В большинстве случаев для правильной постановки диагноза достаточно анамнестических и клинических данных, однако в сложных случаях диагноз подтверждают лабораторно: обнаружение морфологических изменений в инфицированных клетках, наличие вирусного антигена, изоляция вируса в культуре клеток, включая типирование вируса простого герпеса, тесты для определения антигена или ДНК вируса простого герпеса с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), белок-специфичные иммунные тесты (иммуноблот), серологические методы идентификации и определение титра герпес-вирусных антител. Достаточно информативны диагностические тесты, проводимые в первые 5 дней от начала появления высыпаний: изоляция вируса, непрямое иммуноферментное исследование и соскобы по Тцанку.

   Клинически следует отличать герпетиформную экзему Капоши от стрептококкового или стафилококкового импетиго. При импетиго общее состояние пациента ухудшается редко, отсутствует пупкообразное вдавление в центре элементов, корки светло-желтые, рыхло сидящие, а не массивные геморрагические.

#### Задание № 3.

#### Записать характеристику герпес-вирусов человека и основных клинических форм инфекции

|  |  |
| --- | --- |
| Герпес – вирус человека | Различные заболевания, ассоциированные с герпес - вирусом |
| Вирус простого герпеса - 1 | оболочек Генитальный герпес Герпетический лабиальный герпес. Герпес кожи и слизистых оболочек |
| Вирус простого герпеса - 2 |  |
| Varicella zoster |  |
| Эпштейна-Барр |  |
| Мегаловирус | Вирус герпеса человека |
| Вирус герпеса человека – 6,  | Вирус герпеса человека |
| вирус герпеса человека7 | Экзантема. Синдром хронической усталости |
| вирус герпеса человека8 | Саркома Капоши |

### Задание №4

### Запмсать лабораторные данные при опоясывающем герпесе

   Патоморфологические изменения кожи при опоясывающем герпесе напоминают таковые при простом герпесе: внутриклеточный и межклеточный отек в эпидермисе с образованием пузырьков в верхних отделах росткового слоя, баллонирующая дегенерация и дистрофия цитоплазмы, наличие гигантских клеток, содержащих

несколько ядер, в том числе с эозинофильными включениями. В дерме - слабовыраженная инфильтрация нейтрофильными гранулоцитами, которые имеют тенденцию к миграции в эпидермис. Аналогичные поражения обнаруживаются в клетках различных структур головного и спинного мозга, а также печени, селезенки, надпочечников при генерализации процесса.

   Обычно выраженных изменений в анализах крови и мочи не наблюдается, кроме сдвига лейкоцитарной формы влево (6-34% палочкоядерных лейкоцитов).

### Диагноз и дифференциальный диагноз опоясывающего герпеса

   Диагностика затруднена в продромальном периоде. Ранние проявления опоясывающего лишая ошибочно расценивают как буллезную форму рожистого воспаления, грипп, гепатит, холецистит, пищевую интоксикацию и т. д. В отличие от опоясывающего герпеса рожа характеризуется более яркой гиперемией, большей отграниченностью отека от окружающей здоровой кожи, валикообразными, неровными краями. При этом очаги поражения сплошные, кожа более плотная и высыпания располагаются не по ходу нервов.

   Начальные и абортивные проявления опоясывающего герпеса, когда отсутствуют пузырьковые высыпания и на первый план выходит болевой синдром, также представляют определенные диагностические трудности. В подобных случаях при локализации болей в переднелевой части грудной клетки следует проводить дифференциальный диагноз со стенокардией, в связи, с чем пациентам необходимо проводить электрокардиографию.

   Клинически малоотличимые опоясывающий герпес и зостериформный простой герпес различают по результатам вирусологического обследования.

**Закрепление:**

**Ответить на вопросы:**

1. Назовите возбудитеей герпеса**.**
2. Назовите виды герпеса.
3. Что такое аутоинфекция.
4. Источник заболевания и пути передачи герпеса.
5. Клинические проявления простого герпеса.
6. Клинические прояавления опоясывающего герпеса.
7. Назовите осложнения данных заболеваний.
8. Назовите методы вирусологической диагностики герпесов.
9. Поясните, почему вирусы не растут на искусственных питательных средах.
10. Поясните, как культивируются вирусы.

**Занятие № 13**

**Тема: Проведение вирусологической диагностики ВИЧ - инфекции**.

**Цель**:

 научиться диагностировать ВИЧ – инфекцию.

**Тип занятия**:

 практическое и элементами УИРС.

**Задачи:**

 - раскрыть механизм передачи ВИЧ – инфекции,

 - конкретизировать понятия ВИЧ – ифекция и СПИД,

**Планируемые результаты:**

 **Знать:**

 - что такое СПИД и ВИЧ - инфекция

 - проблема СПИДа,

 - технику безопасности паборантов при работе с кровью,

 - классификацию вирусов СПИДа,

 - профилактику заболевания.

 - пути передачи инфекции,

 -терминологию;

 **Уметь:**

 - раскрыть механизм возникновения заболевания.

 - соблюдать ТБ при работе с потенциально опасным материалом

 - ставить реакцию,

 - учитывать результат реакции

 - работать с учебной и справочной литературой.

**Дидактическая база занятия:**

- методические указания для самоподготовки студентов на практических занятиях,

- мульмедиа,

- сборник ситуационных задач.

Вводимые понятия: гомосексуалисты, ВИЧ- инфекция, СПИД. Ретровирусы. диструкция,

**Мотивация:**

 **Ретровирусы** вызывают заболевания, связанные с иммунодефициом человека. Эиологическая роль в развитии ВИЧ инфекции и СПИДа доказана в 1984 году. К настоящему времени идентифицировано 2 вида ВИЧ. 1 этап: теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетрадь:

**1 этап:** теоретические основы - прочесть и записать в протокольную тетради:

1. Основной путь передачи-половые контакты.

2. Вторым по значимости фактором передачи считают использование одних и тех же игл, шприцев - наркоманами.

3. Несколько меньшее значение имеет транс -плацентарная.

4. Кровь и препараты крови.

5. Трансплантация органов.

6. Искусственное оплодотворение и материнское молоко.

 Лабораторные анализы являются основным звеном в диагностике ВИЧ-инфекции, а кроме того, крайне необходимы для своевременного назначения специфического лечения и контроля эффективности проводимого лечения. Постоянное обследование пациентов позволяет контролировать эффективность лечения, выявлять сопутствующие заболевания, отслеживать развитие побочных эффектов.

В 1981 г. в США у мужчин гомосексуалистов впервые была выявлена новая болезнь, названная синдромом приобретенного иммунодефицита человека (СПИД). В 1982 г. американский исследователь Р. Галло высказал предположение, что причиной развития СПИДа является вирус из семейства ретровирусов.

К этому времени Р. Галло и его сотрудники уже выделили два Т-лимфотропных ретровируса человека при использовании разработанной ими техники культивирования Т-лимфоцитов in vitro, также вызывает клеточные лейкозы и лимфомы. В 1983 г. из кусочка ткани увеличенного лимфатического узла больного лимфоаденопатией Л. Мотанье, Ф. Барре-Синусси с группой сотрудников Пастеровского института в Париже выделили еще один ретровирус человека с избирательной тропностью к Т4-лимфоцитам.

#### Структура и химический состав

По структуре ВИЧ-1 и ВИЧ-2 близки. Вирион ВИЧ имеет сферическую форму 100-200 нм в диаметре. Внешняя оболочка вирионов образована двойным липидным слоем, который заимствован вирионом из мембраны клетки хозяина при завершении цикла репликации и выходе из клетки. В оболочке вирионов находится гликопротеиновый комплекс вируса, состоящий из двух субъединиц. обратная транскриптаза, протеаза и интеграза env - 56%.

#### Патогенез и иммунитет

В общем плане заболевание, вызываемое ВИЧ, может быть охарактеризовано как иммунодефицитное состояние инфекционной природы, возникающее вследствие способности вируса паразитировать непосредственно в клетках иммунной системы. до последней смертельной стадии заболевания.

Обычно к 6-8-му мес. после инфицирования достигается определенное плато (setpoint) в уровне репликации, которое отражает то равновесие, которое достигается между организмом и вирусом и заболевание переходит в стадию бессимптомной хронической инфекции. Термин «бессимптомная» в названии стадии относится только к клиническим проявлениям. Продолжительность периода клинически бессимптомной инфекции для 80% пациентов составляет 8-12 лет. В конце этого периода равновесие, столь длительно поддерживавшееся иммунной системой, нарушается. Большинство этих болезней проявляются в таких формах, которые не встречаются у человека с нормально функционирующей иммунной системой. Эти болезни, которые называются СПИД-индикаторными, включают

опухоли, инвазии, грибковые, вирусные и в меньшей степени бактериальные инфекции, вызываемые условно патогенными возбудителями. Механизм дисфункции иммунной системы при ВИЧ-инфекции многообразен. Это является той патологической основой, на которой развивается симптомокомплекс СПИДа. В то же время ВИЧ сам подвергается действию иммунной системы, поскольку в организме человека формируется защитный ответ на его внедрение.

#### Эпидемиология

Источником инфекции является ВИЧ-инфицированный человек на всех стадиях заболевания. Вирус содержится в крови, сперме, влагалищном и цервикальных секретах, в грудном молоке, которые являются факторами передачи инфекции.. Слюна, моча, слезная жидкость также содержат вирус, но количество его недостаточно для заражения. Пути передачи инфекции - половой, парентеральный и вертикальный. С передачей вируса при половых контактах связано около 85-90% всех случаев ВИЧ-инфекции в мире, что позволяет отнести ВИЧ-инфекцию к группе болезней передаваемых половым путем. При этом в глобальном масштабе гетеросексуальные отношения являются причиной 70% случаев заражения, гомосексуальные - 5-10% случаев. 3-5% ВИЧ-инфекции в мире связывают с инфицированием при гемотрансфузиях. Инъекционные наркоманы составляют до 10%, причем эта цифра продолжает увеличиваться. Вертикальная передача ВИЧ от инфицированной матери плоду в последние месяцы беременности, при рождении ребенка или при грудном вскармливании в Африканских странах происходит в 40-50% случаев, а в экономически развитых странах - 25-35%. Эксперты полагают, что интенсивное распространение ВИЧ-инфекции в мире началось в конце 70-х годов, масштабы эпидемии уже более 10 лет расценивают как пандемию. По данным ВОЗ, в конце апреля 1999 г. насчитывалось более 33 млн. людей, инфицированных ВИЧ, и 16,3 млн. погибших от СПИДа. В настоящее время на каждые 100 человек, находящихся в сексуально-активном возрасте (15-49 лет), приходится один носитель ВИЧ. В некоторых регионах СПИД является главной причиной смертности среди взрослого населения. С начала пандемии СПИДа было заражено около 4,8 млн. детей, из которых погибло около 3,6 млн. В Африке, южнее Сахары, проживает две трети зараженных ВИЧ, доминирует гетеросексуальное распространение вируса. ВИЧ характеризуется сравнительно низкой устойчивостью к воздействию химических и физических факторов. Нагревание при 56° в течение 30 мин. приводит к снижению инфекционного титра вируса в 100-1000 раз, а более высокие температуры быстро и полностью его инактивируют. Вирус быстро погибает под воздействием дезинфицирующих веществ, используемых в лабораторной практике (70% этиловый спирт, 3% р-р перекиси водорода, 5% р-р лизола, 0,2% р-р гипохлорита натрия и др.). ВИЧ в то же время достаточно устойчив при комнатной температуре как в сухой, так и жидкой среде (4-6 дней), а также к Уф облучению и ионизирующей радиации.

**Самостоятельная работа студентов:**

**Оснащение занятия:**

**Деманстрационный материал:**

 - сухая капля;

 - тест – система;

 - образец положительной снрологической реакции (ИФА)

**Задание 1**

**Провести серологическую диагностику СПИДа**

Разработана двухэтапная система лабораторной диагностики заболевания, которая включает исследование сыворотки крови человека на наличие антител против ВИЧ. Сыворотка крови лиц с подозрением на ВИЧ-носительство обследуется с помощью ИФА. Это происходит в специализированных лабораториях по диагностике СПИДа, которые разворачиваются на базах СЭС, станций переливания крови, поликлиник, диспансеров, инфекционных больниц и т.д. Основным материалом для исследования является кровь, ее забирают из локтевой вены в объеме 5 мл. Полученную позднее сыворотку можно хранить при температуре 4 ° С в течение 7 дней. Предлагается также использование образа "сухой капли". Он заключается в том, что с помощью стерильной иглы прокалывают палец и несколько капель крови наносят на стерильную диск, изготовленный из фильтровальной бумаги. Высушенные диски могут храниться длительное время (до 6 месяцев) в полиэтиленовых пакетах. В случае необходимости с помощью фосфатного солевого раствора иммуноглобулины переводят в жидкое состояние и исследуют. Доказано, что антитела против ВИЧ можно обнаружить в слезах, слюне, грудном молоке (IgA), спинномозговой жидкости (у лиц с энцефалопатиями или неврологической симптоматикой), даже в моче. Допустимым считается исследование на наличие антител жидкости стекловидного тела трупов. ИФА (в основном, косвенный) позволяет определить антитела в любом исследованном материале. Он является достаточно чувствительным методом, который используется в любых лабораториях мира. Антигены для этих тест-систем получают либо из зараженных тканевых культур, или с помощью рекомбинантных ДНК. ". Следует отметить, что антитела в крови появляются не сразу после попадания ВИЧ в организм, а не менее, чем через 2-3 месяца, а порой и дольше (5-8 мес.), Поэтому следует помнить, что ИФА малопригодной для диагностики вирусоносительства именно в серонегативный период. Одноразовый положительный результат обнаружения антител в крови не позволяет подтвердить диагноз иммунодефицита. Эту реакцию рекомендуют повторить трижды. Диагностические считаются два положительных результаты в трех повторах. Такая схема постановки реакций обусловливается тем, что современные тест-системы все же могут давать как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. Образцы крови, дали два положительных результата из трех повторов, направляются в

специализированные лаборатории при научно-исследовательских институтах для подтверждения наличия ВИЧ-вирусоносительства.

**Задание № 2**

**Провести вирусологическую диагностику СПИДа**

**Алгоритм действия**: материалом для исследования может быть кровь, спинномозговая жидкость, грудное молоко, сперма, биоптаты при аутопсии. Для выявления вируса используют:

1. Электронную микроскопию,

2. Заражения культур Т-лимфоцитов (CD4-клетки).

3.Для идентификации вирусов возможно использование высокочувствительных тест-систем ИФА,

4. Реакции непрямой иммунофлуоресценции, характерной цитопатического действия подобное.

5. Важным для диагностики СПИДа является определение провируса в лимфоцитах, или вирусных нуклеиновых кислот в патологическом материале.

 С этой целью широко используются методы молекулярной гибридизации. Использование этого метода приобретает важное значение особенно из-за того, что серонегативный период при СПИДе может длиться несколько месяцев. Высокая чувствительность предлагаемого метода позволяет выявить даже единичные вирусные частицы в крови. Принцип его заключается в том, что в условиях in vitro вызывается процесс гибридизации между вирусной нуклеиновой кислотой (ДНК, РНК) и специальным зондом, который меченый радиоактивным фосфором 32Р-инфекции. Вирусологическая диагностика СПИДа - достаточно сложный процесс, доступный для выполнения только в высокоспециализированных лабораториях, где создаются все необходимые условия для работы (защита персонала от заражения во время культивирования, очистки и концентрирования ВИЧ) и являются высококвалифицированные специалисты. Таким образом, при наличии ВИЧ-инфекции у вирусоносителей или больных СПИДом можно обнаружить такие вирусспецифического маркеры: антитела к ВИЧ, непосредственно инфекционный вирус, провирус в ДНК пораженных иммуноцитов, вирусный антиген в сыворотке крови и инфицированных клетках-мишенях.

**Заданне № 3**

**Заполнить таблицу. «Группы риска, подверженные СПИДу».**

|  |  |
| --- | --- |
| **Группы риска** | **%** |
| 1. Би- или гомосексуальные мужчины.
 | 43% |
| 1. Гетеросексуалы, принимающие наркотические вещества.
 | 26% |
| 1. Гетеросексуалы.
 | 10% |
| 1. Дети
 | 1% |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |

**Закрепление:** решать ситуационные задачи (сборник прилагается) Задачи № 1 -10 , стр36- 42.

**Зачёт** (задание прилагается – приложение №2)

**Приложение № 1**

**Эталоны ответов**

**Тема: № 2 Проведение микробиологической диагностики актиномикозов и нокардиозов.**

**Задание №1**

1.Да. 2. Да.3.Да.

**Задание № 2**

1. а.б. 2. а. 3. А

 **Задание № 3**

1.Аэрогенный, алиментарный. 2. Факультативными.

**Тема № 3 Эталоны ответов к теме:**

**Задание №1** да, да, нет

**Задание №2** в

**Задание №3** в

**Задание №4 б,в**

**Задание №5** – а.контактный, воздушно- капельный; б.облигатными

 **Задание № 6 –** актиномицеты, актиномикозы**.**

**Тема № 8 Эталоны ответов к теме « Проведение микробиологической диагностики легионеллёзов.**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№№** | **Ответ** | **№№** | **Ответ** | **№№** | **Ответ** |
| 1 | б | 6 | а | 11 | а |
| 2 | в | 7 | а | 12 | в |
| 3 | а | 8 | а | 13 | в |
| 4 | б | 9 | б | 14 | а |
| 5 | в | 10 | б | 15 | а |

**Тема № 9 Эталоны ответов «Индикация и идентификация вирусов»**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| а | а | а | г | в | г | а | а | а | а |

**Приложение № 2**

**Задания к зачёту**

**Ответить на вопросы**.

1. Расскажите о морфологии хламидий.
2. Проследите общие особенности хламидий и микоплазм.
3. Перечислите заболевания, вызываемые хламидиями.
4. Поясните, почему хламидиозы трудно поддаются лечению.
5. Расскажите о цикле развития и размножения хламидий .
6. Какие инфекционные заболевания относятся к ООИ?
7. Что такое реакция Вейль – Феликса и где она используется?
8. Почему в качестве АГ при серологической диагностике сыпного тифа можно использовать культуру протея.
9. Назовите заболевания вызываемые риккетсиями.
10. Титр сыворотки.
11. Диагностический титр сыворотки.
12. Понятие о перевиваемых клетках и культурах тканей.
13. Механизм РСК.
14. Назвать инфекционные заболевания, относящиеся к особо опасным.
15. Назовите заболевание, которое относится к первой группе особо опасных инфекций.
16. Поясните, что такоеМФА с консрантированием фона.
17. Расскажите, какой материал исследуется на микоплазменную инфекцию.
18. Рассказать о способах культивирования микоплпазм и питпательных средах.
19. Рассказать о методе окраски по Романовскому \_ Гимзе.
20. Пояснить, что такое перевиваемые культуры.
21. 21. Поясните, почему цвет индикатора среды при положительной реакции агглютинации снова становится красным.
22. Поясните, что такое метаболизм.
23. Сформулируйте понятие о персистенции.
24. При заболеваниях, вызываемых энтеровирусами ( геморрагические лихорадки ) человек является тупиковым хозяином возбудителя. Поясните, что это значит.
25. Поясните, что такое культуры тканей.
26. Какие методы вирусологической диагностики вам известны.
27. Поясните, что такое перевиваемые культуры.

**Составить алгоритмы действия:**

1. Постановка реакции агглютинации.
2. Методика постановки реакции нейтрализации.
3. Методика постановки реакции торможения гемагглютинации.
4. Методика постановки реакции гемагглютинации.
5. Методика постановки реакции связывания комплемента.
6. Методика заражения куриного эмбриона.