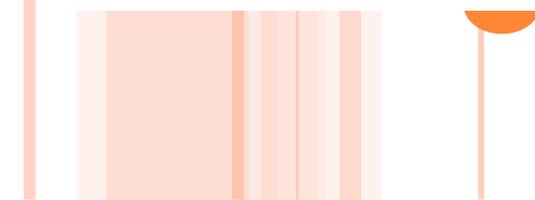


## *Тема 1*

*Медицинская микробиология и иммунология, ее цель и задачи. Систематика и классификация микроорганизмов. Микробиологическая лаборатория, режим работы. Методы микробиологического исследования. Микроскопический метод. Микроскопы, правила работы с иммерсионным объективом.*



## ОБСУЖДАЕМЫЕ ВОПРОСЫ:

- 1. Введение в предмет «Медицинская микробиология и иммунология», ее место в медицинском образовании, значение во врачебной деятельности.
- 2. Разделы, цель и задачи предмета.
- 3. Современные принципы классификации микроорганизмов. Основные группы микроорганизмов. Прокариоты (бактерии, спирохеты, актиномицеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы), эукариоты (простейшие, грибы) и вирусы.
- 4. Таксономия и таксономические категории: царство-отдел-класс-порядок-семейство-род-вид-подвид. Вид - как основная таксономическая категория. Понятия о категориях подвида: биовар, серовар, фаговар. Понятия «культура», «штамм», «клон». Номенклатура микроорганизмов.
- 5. Классификация прокариот по Берджи
- 6. Виды (бактериологическая, микологическая, паразитологическая, вирусологическая, иммунологическая, молекулярно-генетическая, особого режима) и оборудование микробиологических лабораторий.
- 7. Оснащение и приборы
- 8. Режим работы в микробиологической лаборатории
- 9. Методы микробиологической диагностики:
  - а) *Микроскопический*; б) *Культуральный*; в) *Биологический (экспериментальный)*; д) *Иммунологический (серологические реакции, кожно-аллергические реакции)*; е) *Молекулярно-генетические методы*.
- 10. Значение микроскопического метода.
- 11. Типы микроскопов (световой, темнопольный, фазово-контрастный, люминесцентный, электронный, сканирующий), техника микроскопирования. Увеличительная способность микроскопа.
- 12. Типы объективов. Правила работы с иммерсионным микроскопом.

## ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

- Дать информацию студентам о предмете «Медицинская микробиология и иммунология», ее цели и задачах, месте в медицинском образовании, ее отделах, значении во врачебной деятельности, разъяснить микроорганизмы, их основные группы, систематику и принципы классификации. Дать информацию о классификации бактерий. Объяснить роль микробиологической лаборатории в диагностике инфекционных заболеваний. Дать информацию о видах и устройстве микробиологических лабораторий, режиме работы в них. Разъяснить методы микробиологической диагностики. Ознакомить студентов с микроскопическим методом, типами современных микроскопов и правилами работы с иммерсионным объективом.



# Предмет микробиология

**Микробиология** - (греч. **mikros**-малый, лат. **bios**-жизнь, **logos**-наука) - это наука, изучающая закономерности жизнедеятельности микроорганизмов, невидимых невооружённым глазом.

**Общая микробиология** – изучает морфологию (форму и строение), физиологию (питание, метаболизм, дыхание и размножение), генетику (наследственность и изменчивость) микроорганизмов.

**Частная микробиология** – изучает особенности отдельных микроорганизмов. В связи с этим она делится на такие разделы, как бактериология, вирусология, микология, протозоология.

**Объектами исследования** микробиологии являются прокариоты (бактерии, спирохеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы, актиномицеты), эукариоты (микроскопические грибы и простейшие), имеющие клеточное строение, а также вирусы, вириды и прионы, не имеющие клеточного строения.

# КЛАССИФИКАЦИЯ ЦАРСТВА МИКРОБОВ



# КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОКАРИОТ

- *Современная классификация прокариот была предложена американским бактериологом в 1923 году. Она регулярно обновляется Международным Комитетом по Систематике бактерий.*
- *В последней 9-ой публикации прокариоты по строению клеточной стенки подразделяются на четыре категории.*
- **Каждая категория состоит из многочисленных групп.**



# СОВРЕМЕННАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОКАРИОТ ПО БЕРДЖИ

- Грамотрицательные, имеющие клеточную стенку эубактерии
- Грамположительные, имеющие клеточную стенку эубактерии
- Эубактерии, не имеющие клеточную стенку
- Архебактерии



*В современной классификации прокариот имеется  
24 типа, 33 класса*

*1. Эубактерии с тонкой Грам-отрицательной  
клеточной стенкой - **Gracilicutes** 16 групп*

*2. Эубактерии с толстой Грам-положительной  
клеточной стенкой – **Firmicutes** 13 групп*

*3. Эубактерии, не имеющие клеточной стенки –  
микоплазмы - **Tenericutes** класс **Mollicutes** – 1  
группа*

*4. У архебактерий клеточная стенка и  
пептидогликан отсутствуют. Не вызывают  
болезней у человека. Включают 5 групп.*



# Классификация и таксономия бактерий

**ДОМЕН БАКТЕРИИ**

**Прокариоты**

**Эубактерии**

**Архебактерии**

**Gracilicute  
s Грам-  
отрицательн  
ые**

**Firmicutes  
Грамм-  
положительн  
ые**

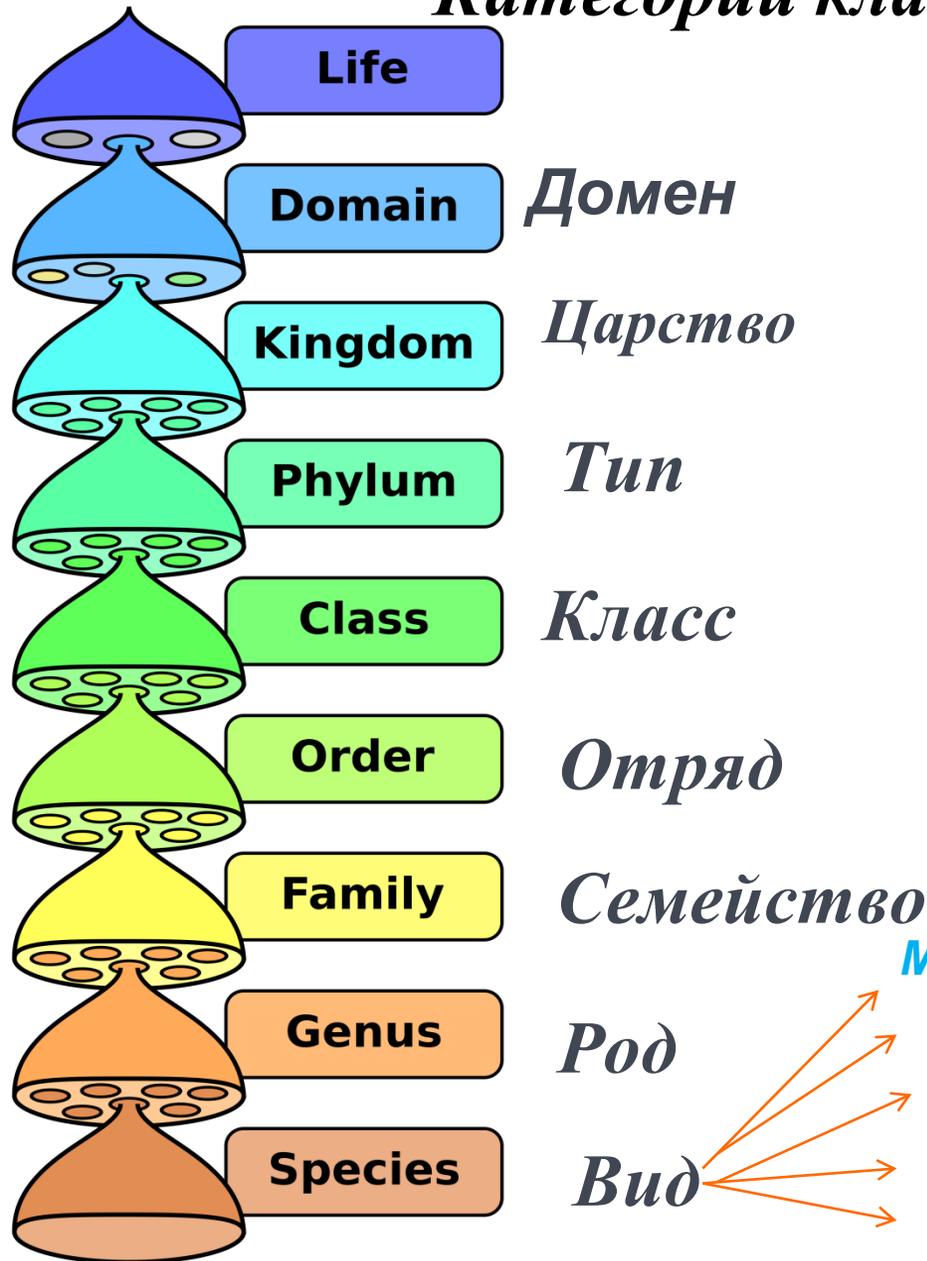
**Tenerecutes  
Микоплазма**

**Без клеточной  
стенки  
(Mendosicutes)**



# Таксономия микроорганизмов

## Категории классификации



Каждый микроорганизм в систематике имеет определённую таксономию (греч. taxis-место, ряд).

К таксономии относятся:

- ✧ **Классификация**
- **Идентификация**
- ✧ **Номенклатура**

Морфовар

биовар

серовар

фаговар

штамм



## ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ

Царство	Prokaryotae
Тип	Gracilicutes
Класс	Scotobacteria
Порядок	Eubacteriales
Семейство	Enterobacteriaceae
Род	Escherichia
Вид	coli
Подвид	Escherichia coli O157:H7

Считается, что для таксонов высокого ранга больше подходит название не «Отдел», а «Тип» (Phylum).



# Идентификация микроорганизмов

- морфологическая
- тинкториальная
- культуральная
- биохимическая
- антигенная

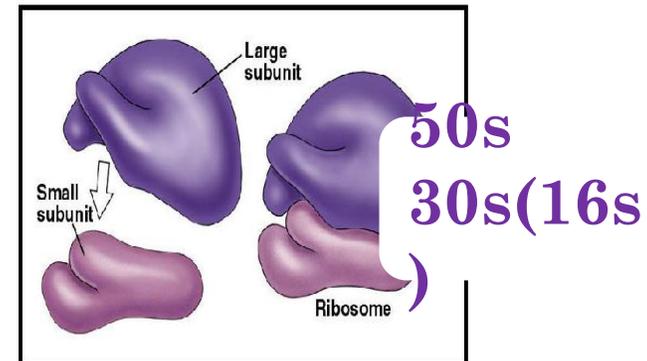
*По фенотипу*

- По процентному соотношению Г+ Ц
- По гибридизации ДНК,
- Секвенирование,
- По действию фермента рестриктазы.
- По полиморфизму в цепочке ДНК

*По генотипу*

- Консерватизм рибосомы 16S
- Гены, кодирующие RNT и рибосомные белки

*По филогенезу*



# ***НОМЕНКЛАТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ***

- *Применяется номенклатура микроорганизмов, созданная К.Линнеем для обозначения их названий (кроме вирусов).*
- *В этом случае первое слово обозначает род, оно пишется с заглавной буквы, второе слово означает вид и пишется с маленькой буквы.*

*Например, **Mycobacterium tuberculosis***

***Francisella tularensis***

***Staphylococcus aureus** vа s.*

➤ **Вид** – это микроорганизмы, имеющие общее происхождение и похожие морфо-биологические свойства.

➤ **Штамм** – это чистая культура одного вида микроорганизмов, полученных из различных (или одного) источников в разное время.

➤ **Клон** – культура, выращенная из одной микробной клетки.

➤ **Колония** – это скопление (популяция), образуемая бактериями на твёрдых питательных средах.

➤ **Чистая культура микроба** – имеется ввиду популяция, образованная одним видом микроорганизма на плотной питательной среде.



## *Внутривидовые варианты*

➤ *морфовар* – вариант, отличающийся от основного вида по морфологическим свойствам.

➤ *биовар* – отличие по нескольким биологическим свойствам

➤ *серовар* – отличие по антигенной структуре

➤ *фаговар* – по чувствительности к определённому фагу

➤ *хемовар* – отличие по биохимическим свойствам

➤ *резистовар* – отличие по чувствительности к антимикробным препаратам



# *Роль микробиологической лаборатории в диагностике заболеваний*

*Исследования микробиологических лабораторий играют важную роль в ранней и точной **диагностике** инфекционных заболеваний.*

***Микробиологические лаборатории функционируют в :***

- ✓Центрах гигиены и эпидемиологии*
- ✓поликлиниках*
- ✓больницах и*
- ✓научно-исследовательских институтах*

# *Виды микробиологических лабораторий*

*Виды  
микробиологических  
лабораторий*

```
graph TD; A[Виды микробиологических лабораторий] --- B[Бактериологические]; A --- C[Микологические]; A --- D[Вирусологические]; A --- E[Иммунологические]; A --- F[Молекулярно-генетические]; A --- G[Особо-опасные];
```

*Бактериологические*

*Микологические*

*Вирусологические*

*Иммунологические*

*Молекулярно-генетические*

*Особо-опасные*

## **СТРУКТУРА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ СОСТОИТ ИЗ СЛЕДУЮЩИХ ПОМЕЩЕНИЙ:**

**1. КОМНАТА ОТБОРА ПРОБ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2. ПРЕПАРАТОРСКАЯ** – для приготовления питательных сред, материалов, красителей для проведения исследования

**3. АВТОКЛАВНАЯ** – для размещения стерилизационного оборудования (автоклав, паровой стерилизатор)

**4. МОЕЧНАЯ** – для дезинфекции и мытья чашек Петри, пробирок, колб, использованных пипеток.

**5. КОМНАТА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ** – для исследования проб пациентов – гноя, мокроты, крови, мочи, кала, спинно- мозговой жидкости различными методами

**6. ВИВАРИУМ**– для содержания экспериментальных животных



# *Современная микробиологическая лаборатория*





# Оборудование микробиологической лаборатории



*Чашки Петри*



*тампоны*



*петля*



*игла*



*шпатель*



*Спиртовая  
горелка*

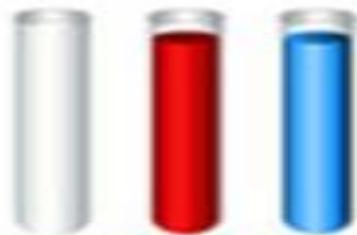
# Оборудование микробиологической лаборатории



*Стаканы*



*Посуда для реагентов*



*Пробирки*



*штатив*



*Штатив и зажим*



*микроскоп*



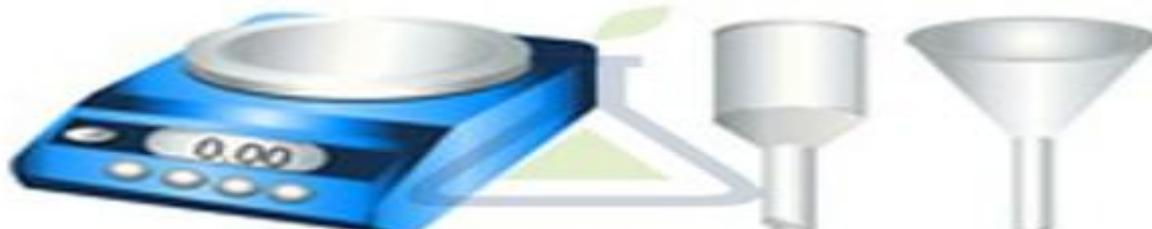
*Мерные цилиндры- мензурки*



*Газовая горелка*



*пипетка*



*Электронные весы*

*Воронки для фильтров*



*Колбы с ровным основанием*



*Защитные очки*



*Мельница*



*микрошпатель*

# ***ПРИБОРЫ , ПРИМЕНЯЕМЫЕ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ***

- 1. Микроскопы***
- 2. Автоклав***
- 3. Паровой стерилизатор***
- 4. Термостат***
- 5. Водяная баня***
- 6. Холодильный шкаф***
- 7. Центрифуга***



# ***ПРИБОРЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ***



***Система Газпак***



***Печь Пастера***



***Центрифуга***



***Холодильные шкафы***



***Автоклав***



***Магнитная мешалка***

## *Бактериологические анализаторы*



*Анализаторы для идентификации микроорганизмов, изучения их чувствительности к антибиотикам и гемокультуры*



## ***РЕЖИМ РАБОТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ***

*В микробиологических лабораториях лечебных учреждений, работающих с патогенными микроорганизмами для предупреждения повторного инфицирования и распространения микробов необходимо соблюдать следующие правила ( т.н. режим работы лаборатории)*

- a) В лабораторию нельзя заходить без халата и колпака В случае необходимости нужно использовать маску.*
- b) Нельзя заходить в лабораторию в верхней одежде, много передвигаться и много разговаривать.*
- c) В лаборатории нельзя кушать, пить чай и курить*
- d) В случае попадания патологического материала на халат, стол или на пол, необходимо немедленно обработать дезинфицирующим средством.*
- e) Использованные пипетки, шпатели, пробирки, чашки Петри необходимо замочить в дезинфицирующем растворе.*
- f) В конце работы рабочий стол необходимо убрать, дезинфицировать, засеянные чашки Петри поместить в термостат, музейные штаммы и неиспользованные питательные среды поместить в холодильник.*
- g) Предметный столик микроскопа и объектив с увеличением 90 необходимо очистить от масла и положить под объектив кусочек марли. Для предотвращения попадания пыли микроскоп необходимо накрывать специальным покрытием.*
- h) По окончании работы нужно протереть руки салфеткой, пропитанной дезинфицирующим раствором и вымыть с мылом.*

## **При проведении микробиологических лабораторных исследований необходимо соблюдать следующие правила:**

- 1. Работать с инфицированным материалом только с помощью инструментов (пинцет, петля и др.)**
- 2. Прикасаться к культуре микроба в чашке Петри и конденсату запрещается**
- 3. До начала работы необходимо проверить целостность стеклянной посуды, проводимость игл, надёжность шприцов.**
- 4. Во время посева материала на чашку Петри, колбу, флаконы нанести дату и номер анализа.**
- 5. На пробирку, чашку Петри материал переносится над пламенем горелки, щипатель, края пробирки нужно провести через пламя, а петлю прокалить в пламени.**
- 6. Во время работы чашки Петри должны быть в кювете либо на подносе, а пробирки - в штативе.**
- 7. Суспензия патогенных микроорганизмов нужно переносить пипеткой Пастера с резиновым баллончиком.**
- 8. Пипетировать ртом и переносить в посуду рядом с другой посудой запрещается.**
- 9. По окончании работы оставлять на столе фиксированные препараты, чашки Петри, пробирки, другую зараженную посуду запрещается.**

# *Методы микробиологического исследования*

*1. Микроскопический метод*

*2. Культуральный (бактериологический,  
вирусологический, микологический,  
паразитологический) метод*

*3. Биологический метод*

*4. Иммунологический метод*

*- серологический*

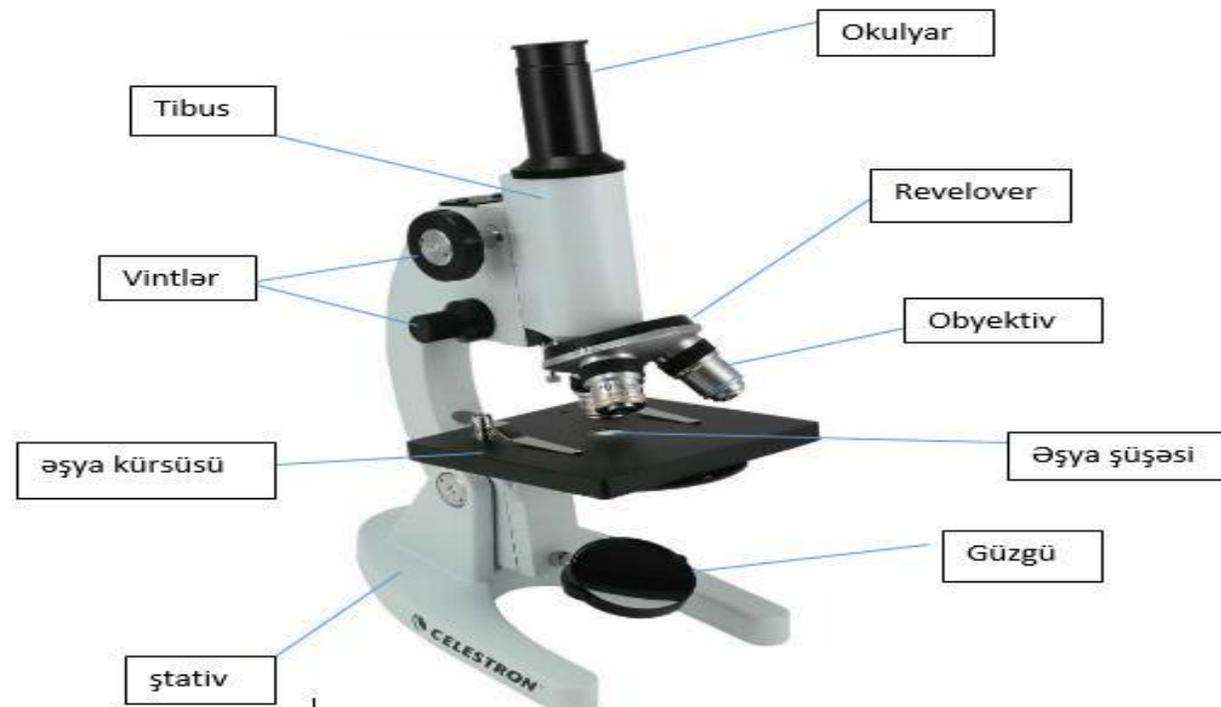
*- кожно-аллергические пробы*

*5. Молекулярно-генетический метод*



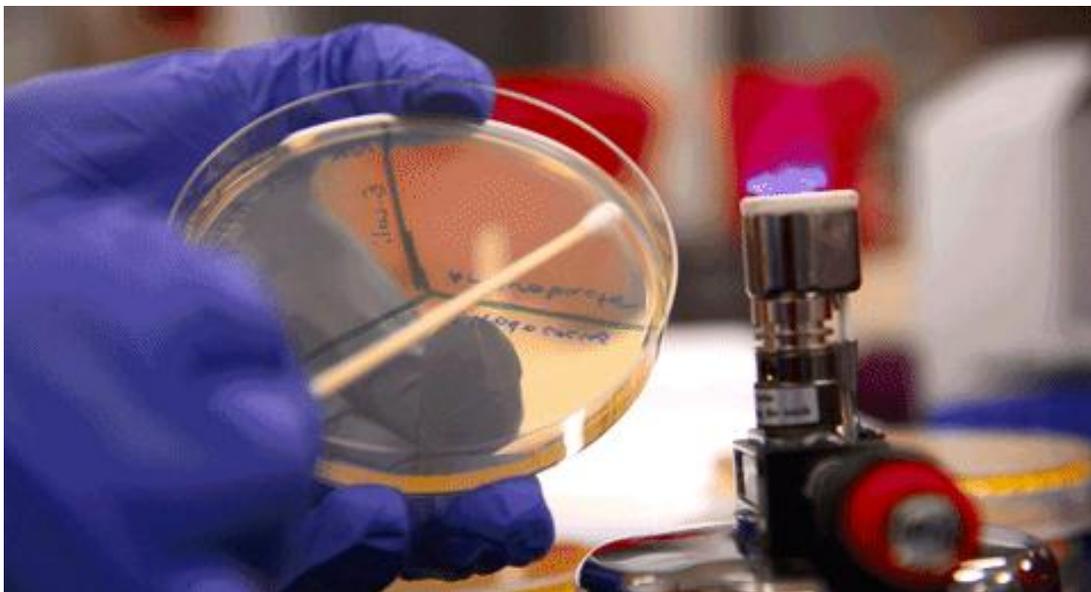
# Метод микроскопии

- ❑ С помощью микроскопического метода в исследуемом материале определяют наличие микроорганизмов и их морфологию.
- ❑ Дополнительные элементы – определяют наличие капсулы, спор, жгутиков, других элементов (зёрна волютина).
- ❑ Поскольку многие микроорганизмы невозможно определить на основании морфологии и тинкториальных свойств, поэтому микроскопический метод считается приблизительным диагностическим методом.



## *Культуральный (бактериологический) метод*

- При проведении исследования этим методом производится посев патологического материала на соответствующие питательные среды, инкубация, получение «чистой культуры» и идентификация.*
- Будучи **«золотым стандартом»** микробиологической диагностики, метод позволяет правильно определить возбудителя.*



## ***БИОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД***

- ❑ *Производится заражение лабораторных животных патологическим материалом*
- ❑ *Биологический метод применяют, если невозможно получить чистую культуру бактериологическим методом.*
- ❑ *Изучается патогенность, вирулентность и токсигенность микроба.*
- ❑ *Проводятся экспериментальные исследования новых лекарственных препаратов.*



## *ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД*

*Серологический метод* – в сыворотке крови определяют антигены возбудителя, либо антитела против возбудителя, а так же с помощью известной иммунной сыворотки определяют вид и серовар неизвестного микроба (*серологическая идентификация*).



## ***КОЖНО-АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ПРОБА***

- *В связи с тем, что антигены возбудителей вызывают сенсibilизацию, для диагностики инфекционных болезней применяются аллергические реакции*
- *при туберкулёзе - проба Манту,*
- *при бруцеллёзе - проба Бюрне,*
- *при туляремии - реакция на тулярин и т.д.*



# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

- **Полимеразная цепная реакция.** Основана на принципе приумножения (амплификации) и определения нуклеиновой кислоты возбудителя в патологическом материале либо в чистой культуре.
- **ДНК и молекулярная гибридизация РНК.** Основаны на определении геномных фрагментов, характерных для возбудителя.
- **Основное преимущество молекулярно-генетического метода – высокая чувствительность и специфичность..**



# *Микроскопы*

*В микробиологических лабораториях для исследования микроорганизмов применяется микроскоп..*

*➤ **Микроскоп** (lat. **mikro** — малый, **skopid** — смотрю) — служит для увеличения изображения объекта, в том числе измерения невидимых частей объекта.*

*➤ Современный **биологический микроскоп** — это сложный оптический прибор, который помогает изучить объекты, проводящие световые лучи в светлом и тёмном поле*

*➤ Для изучения формы, строения, размеров и других свойств бактерий размером более **0,2 мкм** применяется световой микроскоп.*

***Виды  
микроскопов***

***Биологический  
(световой) м.***

***Электронный м.***

***Другие м.***

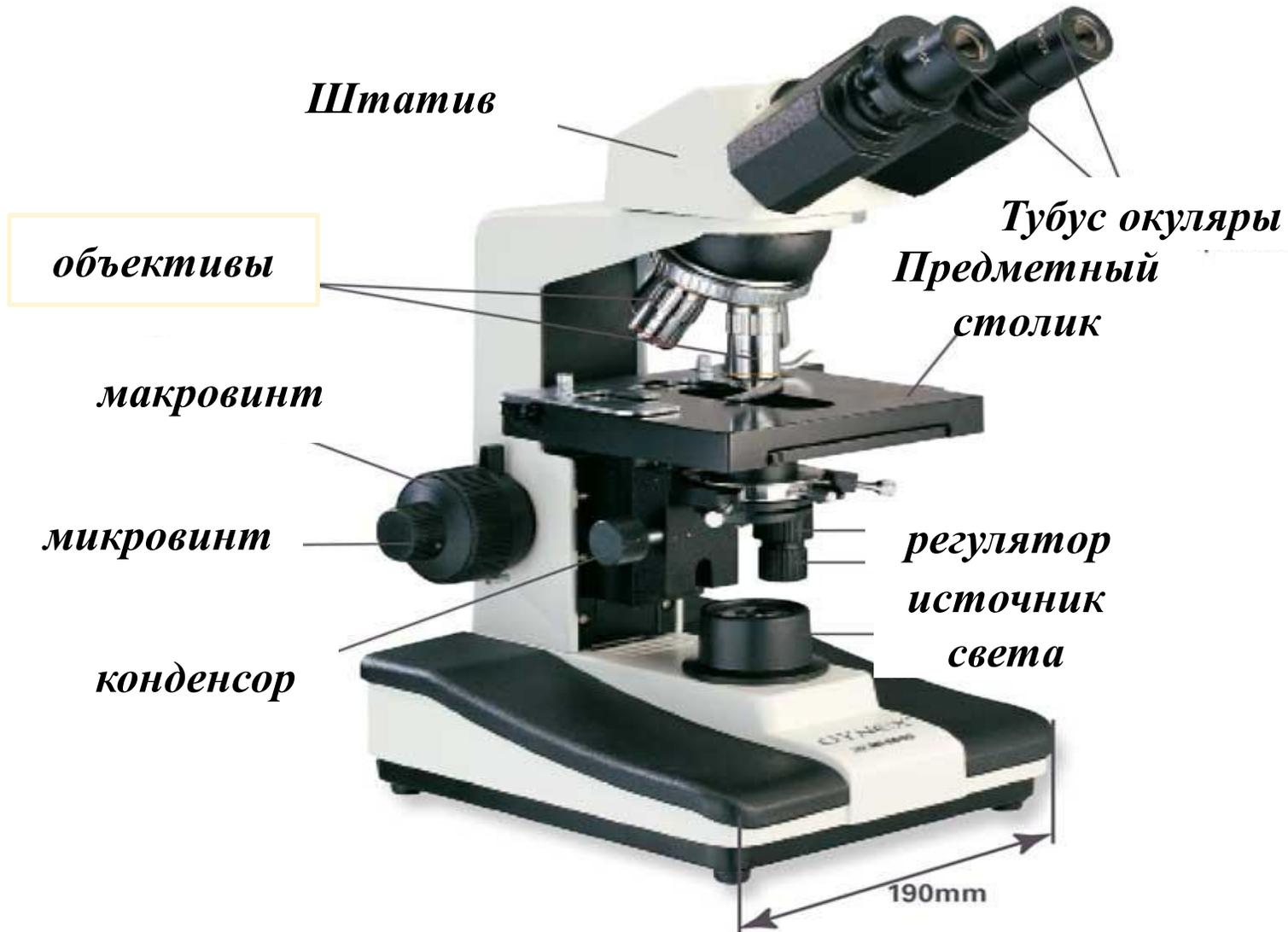
***Темнопольный м.***

***Контрастно-  
фазный м.***

***Люминесцентный м.***



# Строение светового микроскопа



Биологический микроскоп состоит из двух частей:

- | <b>Механическая</b>      | <b>Оптическая</b> |
|--------------------------|-------------------|
| a) Штатив                | Объективы         |
| b) Ручка                 | Окуляры           |
| c) Тубус                 |                   |
| d) Предметный столик     |                   |
|                          | <b>Освещение</b>  |
| e) Макрометрический винт | - зеркало         |
|                          | - конденсор       |
| f) Микрометрический винт |                   |
| g) револьвер             |                   |

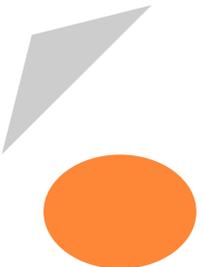
# Предметный столик



✓Предметный столик относится к механической части микроскопа

✓Это часть микроскопа, на которую помещается препарат для исследования

✓На нём располагаются зажимы. Эти зажимы эластичные, они прижимают исследуемый предмет к предметному столику.



# *ТУБУС*



✓Между окуляром и револьвером находится тубус, или смотровая трубка.

✓Тубус несёт направляющую функцию. Другими словами, он направляет лучи от изображения до глаза.

✓Расстояние между объективом и окуляром называется оптической длиной тубуса.



# Окуляр

✓ Слово окуляр образовано от слова «окулус», что означает «глаз».

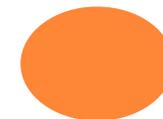
✓ Окуляр расположен в верхней части тубуса

✓ Окуляр выполняет функцию линзы, является одной из двух частей, увеличивающих изображение.

✓ Для изучения препарата под микроскопом прислоняемся глазами к окуляру

✓ Окуляр состоит из двух линз и придерживающей их рамки.

✓ Линза, расположенная дальше от тубуса, называется «верхней» или «глазной» линзой, а другая- «нижней» линзой.



## ТИПЫ ОБЪЕКТИВОВ

✓ **Объектив** состоит из **двояковыпуклых линз** и относится к **оптической части микроскопа**

- **фронтальная линза** находится **спереди**

- **корректирующая линза** находится **сверху-сзади**

**Биологические микроскопы**

**(x8, 10, 40, 60) - сухой**

**(x90, x100) – снабжен иммерсионным объективом**



## *Увеличительная способность микроскопа*

➤ *Увеличение микроскопа равно произведению увеличений объектива и окуляра*

➤ ***Объектив X окуляр = полное увеличение***

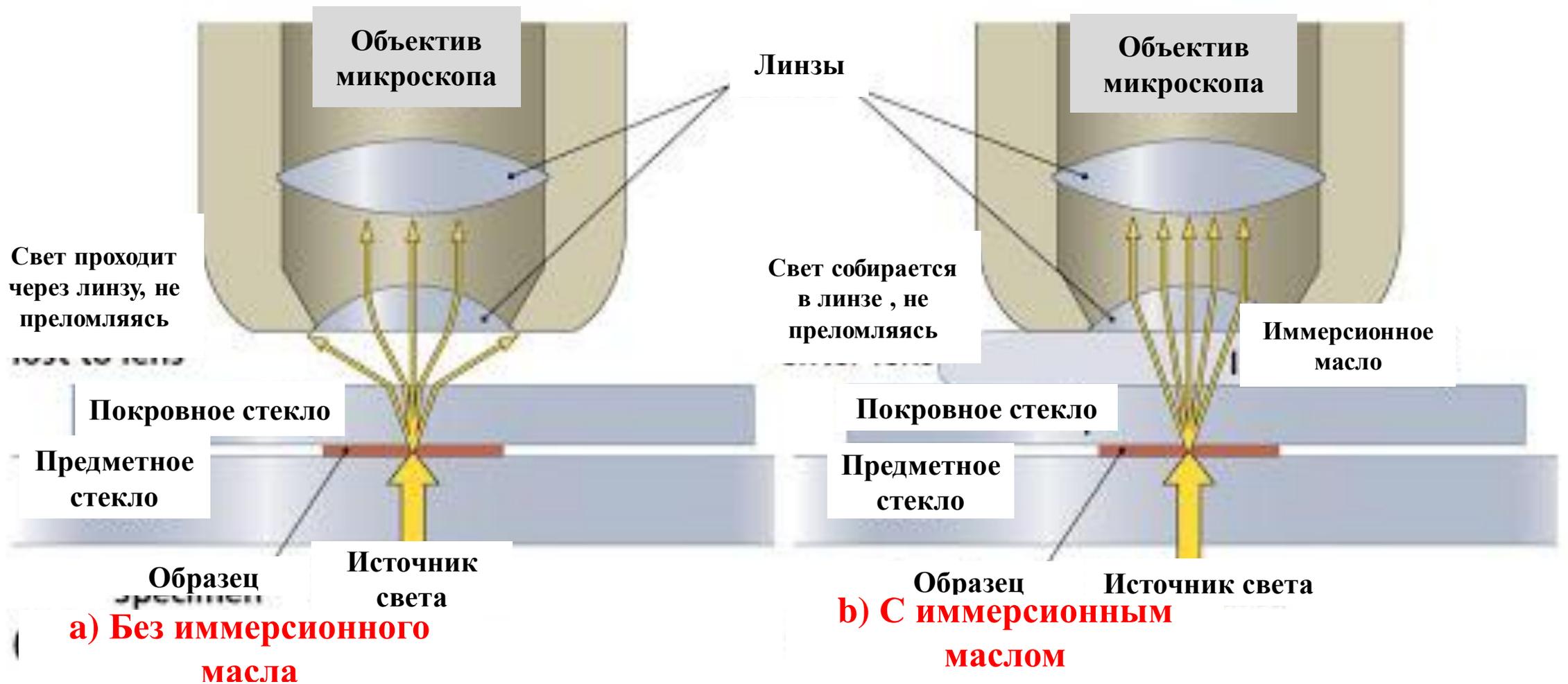
➤ *Если объектив увеличен в 100 раз, а окуляра в 10 раз, общее увеличение микроскопа будет  $100 \times 10 = 1000$  раз.*

➤ *Биологические световые микроскопы позволяют увеличить объект до 2000-3000 раз.*

➤ *Дифференциал 0,00027 мм*



# Правила работы с иммерсионным объективом



*Схема исследования под световым микроскопом сухим (a) и иммерсионным (b) объективом*

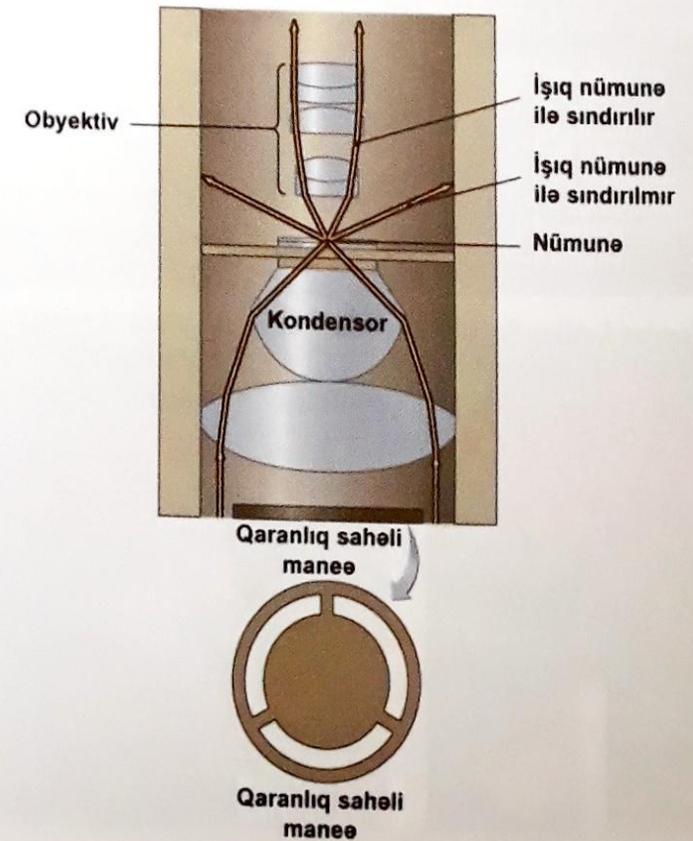
# Темнопольный микроскоп

➤ У биологического микроскопа вместо конденсора имеется **паралоид -или кордиоид-конденсор**.

➤ У верхней линзы края закруглённые и бесцветные, а середина чёрного цвета.

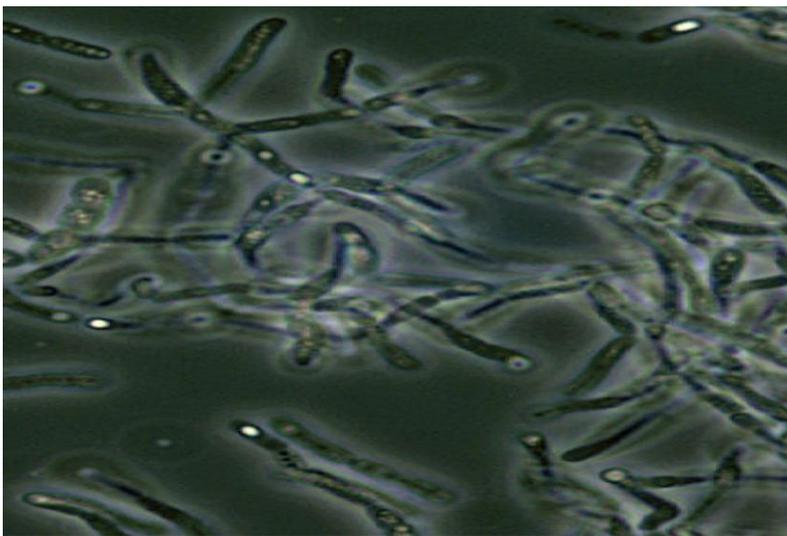
➤ Специальный конденсор создаёт тёмное поле микроскопии, на котором видны светящиеся исследуемые частицы.

➤ Эти микроскопы позволяют увидеть не поддающиеся окраске такие микробы, как спирохеты, без окрашивания



## ФАЗОВО-КОНТРАСТНЫЙ МИКРОСКОП

- Лучи света, проходящие через область высокой оптической плотности любого объекта, отстают от других областей по фазе. Такие области не видны под микроскопом, потому что они прозрачны. Поэтому, с помощью устройства контрастной фазы для получения контрастного изображения фазовая изменчивость световых лучей, проходящих через объект, преобразуется в амплитудную изменчивость, и прозрачные объекты видны под микроскопом.
- Устройство преобразует длину волны в длину фазы.
- Это сделано путем размещения специальной диафрагмы на световом микроскопе и дифракционной пластинки перед ним.
- Органеллы освещаются по-разному и могут быть легко идентифицированы под микроскопом
- Позволяет изучать структурные элементы бактерий, их размножение, споруляцию, действие химических веществ.



**Споры *B.antracis* под контрастно-фазовым микроскопом**

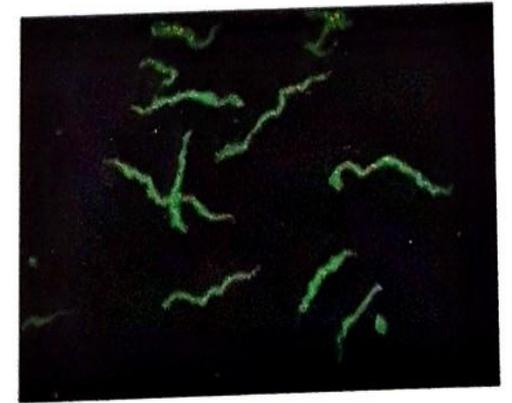
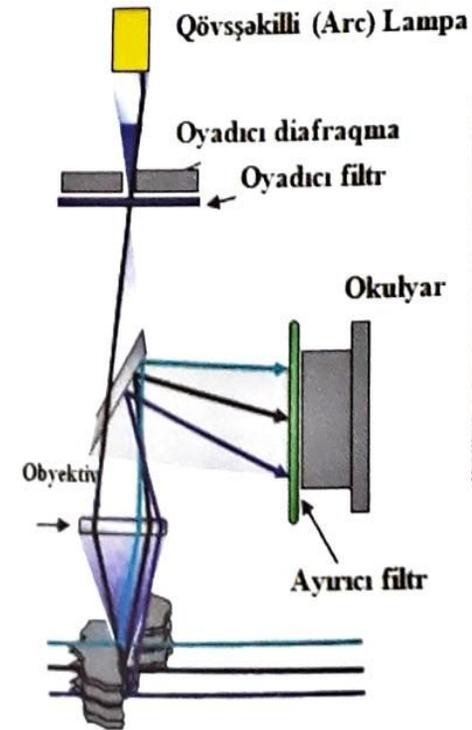


# Люминесцентный (флюоресцентный) микроскоп

➤ **Люминисценция (lat. lumen – означает свет)** основана на превращении поглощённой потенциальной энергии в световую и свечении при охлаждении.

➤ **Применяется УФИ.** Поскольку эти лучи невидимы для человеческого глаза, препарат сначала окрашивают флюоресцентными красителями (акридин, аурамин, нейтральный красный, флюоресцеин и др.)

➤ **Микроорганизмы видны как флюоресцирующие частицы в тёмном поле.**



Fluorescent mikroskopun sxemi (sol),  
fluorescent mikroskopda spiroxetlərin  
görünüşü (sağ)

Схема флюоресцентного микрооскопа(справа),  
спирохеты под флюоресцентным микроскопом  
(слева)



# **ЭЛЕКТРОННЫЙ МИКРОСКОП**

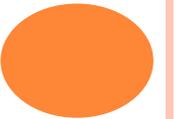
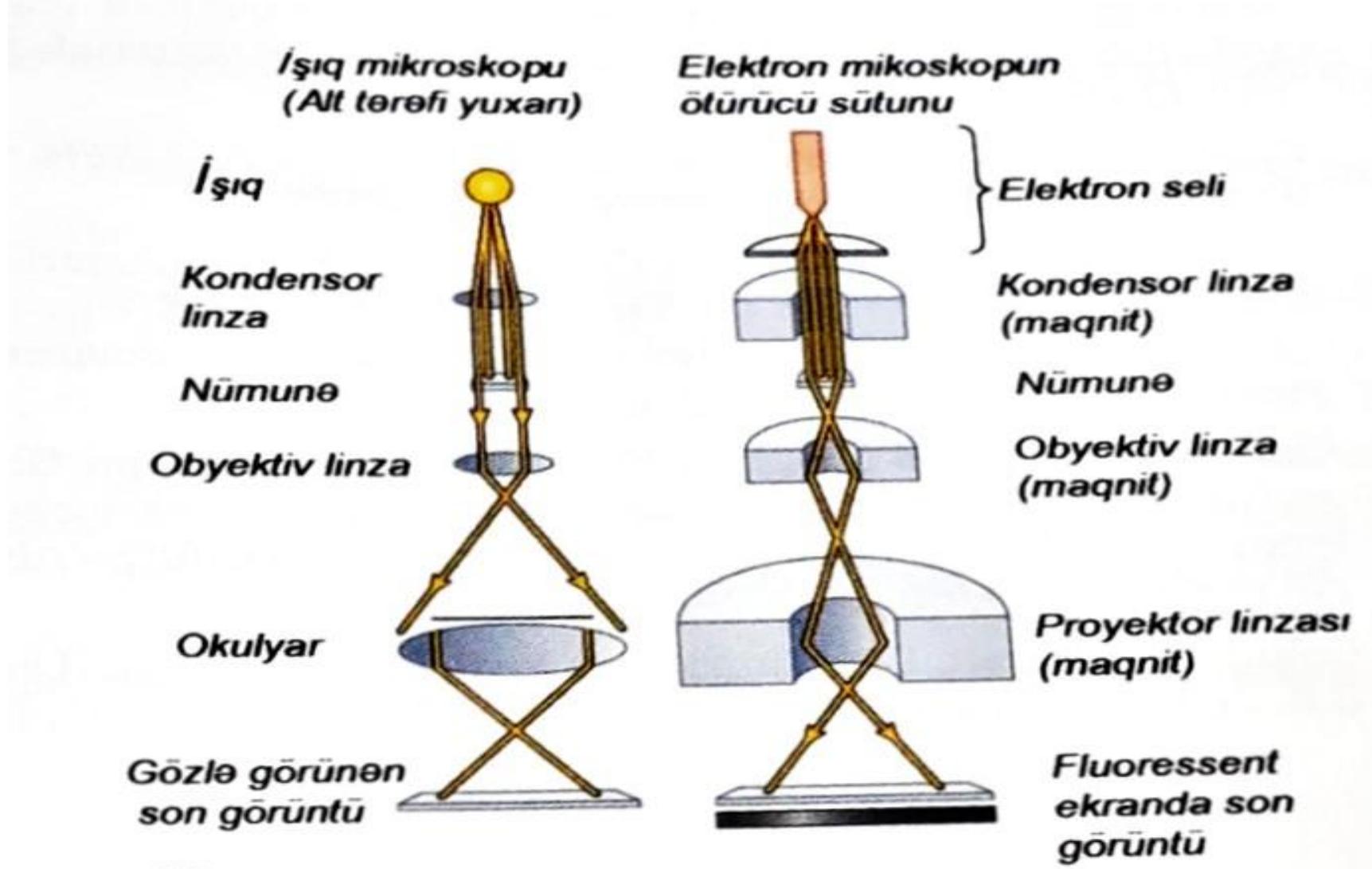
- ✓ *В электронном микроскопе вместо световых лучей используется **поток электронов.***
- *Электронный микроскоп позволяет увидеть очень мелкие объекты, такие как структурные элементы вирусов, бактерий и других микроорганизмов, макромолекулы и другие субмикроскопические частицы*
- *Длина волны электронного излучения примерно 0,005 нм, в 200000-300000 короче длины волны светового излучения.*
- *Так как длина волны электронного излучения короче длины волны света, поэтому полезное увеличение достигает самого верхнего предела и обеспечивает увеличение в 1000 больше ( $\times 1\ 000\ 000$ ), чем световой микроскоп.*



# *Электронный микроскоп*



# Prinsipialna schema svetovogo i elektronnoyo mikroskopa



## *Сканирующий электронный микроскоп*

*Сканирующий электронный микроскоп (ing. Scanning Electron Microscope - SEM) – это прибор из класса электронные микроскопы.*

- *Это прибор для изображения крупных объектов (до 0,4 нанометра), поверхности объекта, а так же состава и строения поверхностного слоя, и для получения информации о других особенностях.*
- *Основан на принципе взаимодействия электронного излучения и исследуемого объекта.*
- *Полученную информацию компьютер выдаёт в виде картинки.*



## **Правила работы с иммерсионным объективом**

✓Для микробиологических исследований, в основном применяется влажная (иммерсионная) (*immersio* - lat. погружение) система с высокой степенью увеличения (в 90раз).

✓Во время микроскопии лучи, попадающие на препарат, проходят через стекло и попадают в воздух, некоторые из них рассеиваются и не падают на линзу, снижая способность к изображению.

✓Поэтому для предотвращения рассеивания лучей используется иммерсионное масло (показатель преломления -1,52), показатель преломления которого близок к показателю преломления стекла.

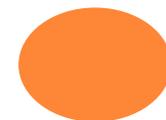
✓Иммерсионное масло заполняет промежуток между линзой и препаратом, все лучи, проходящие через препарат, попадают в объектив, усиливая увеличение микроскопа

✓Объективы, в зависимости от сухого и влажного способа (масло, иммерсия - *immersio* (lat.заморозить)) делятся на две системы.

✓Иммерсионный объектив опускают в каплю масла.

✓Коэффициент преломления иммерсионного масла примерно равен коэффициенту преломления стекла -1,52, поэтому все лучи, проходящие через препарат не рассеиваются, а попадают в объектив.

## Правило работы с микроскопом:



**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ**

