

Документ подписан простой электронной подписью Информация о владельце: ФИО: Таскаев Сергей Валерьевич Должность: Ректор Дата подписания: 12.09.2025 09:48:47 Уникальный программный ключ: 04c19ed8bfb28f3b6cb77a486b9a8788b8322323	МИНОВЕР НАУКИ РОССИИ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Фонд оценочных средств по дисциплине «Микробиология и вирусология 06.03.01 «Биология»» ФГБОУ ВО «ЧелГУ»	стр. 1
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------

## **Фонд оценочных средств**

по дисциплине

## **Микробиология и вирусология**

Направление подготовки (специальность)

**06.03.01 Биология**

Присваиваемая квалификация

**Бакалавр**

Форма обучения

**Очная**

Год набора: 2025

Челябинск, 2025



## 1. ПАСПОРТ ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Направление подготовки: 06.03.01 Биология.

Дисциплина: Микробиология. Вирусология.

Семестр изучения: 3.

Форма промежуточной аттестации: экзамен.

## 2. ПЕРЕЧЕНЬ ФОРМИРУЕМЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ

### 2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной

Изучение дисциплины направлено на формирование компетенций, представленных в таблице 1.

Таблица 1. Компетенции, формируемые в результате освоения дисциплины

Коды компетенции и (по ФГОС)	Содержание компетенции согласно ФГОС	Коды и содержание индикаторов	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине
УК-1	Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	УК-1.1. Выполняет поиск информации, определяет критерии системного анализа поставленных задач УК-1.2. Использует критический анализ, систематизацию и обобщение информации для решения поставленных задач	Знать: Для достижения УК-1.1 знать: принцип работы современной аппаратуры для выполнения научно-исследовательских и лабораторных бактериологических работ Уметь: Для достижения УК-1.2 уметь: работать с современной аппаратурой для выполнения научно-исследовательских и лабораторных бактериологических работ Владеть: Для достижения УК-1.2 владеть: техникой работы на современном бактериологическом оборудовании
ОПК-1	Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	ОПК-1.1. анализирует теоретические основы микробиологии и вирусологии, ботаники, зоологии и использует их для изучения жизни и свойств живых объектов, их идентификации и культивирования; ОПК-1.3. понимает роль биологического разнообразия как ведущего фактора устойчивости живых систем и биосферы в целом.	Знать: Для достижения ОПК-1.1 знать: особенности распространения микроорганизмов в различных средах обитания, их роль в экосистемах и биосфере в целом; принципы идентификации микроорганизмов в лабораторных условиях Уметь: Для достижения ОПК-1.3 уметь: пользоваться современными методами изучения микроорганизмов и микробиологических процессов



			Владеть: Для достижения ОПК-1.1 владеть: теоретическими основами методов наблюдения, описания, идентификации, классификации, культивирования биологических объектов
<b>ОПК-2</b>	Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания	ОПК-2.1. рассматривает основные системы жизнеобеспечения и гомеостатической регуляции жизненных функций у растений и у животных, способы восприятия, хранения и передачи информации, ориентируется в современных методических подходах, концепциях и проблемах физиологии, цитологии, биохимии, биофизики; ОПК-2.2. устанавливает связи физиологического состояния объекта с факторами окружающей среды. ОПК-2.3. использует опыт применения экспериментальных методов для оценки состояния живых объектов.	Знать: Для достижения ОПК-2.1 знать: принципы клеточной организации бактерий; биофизические и биохимические процессы, протекающие в бактериальной клетке, строение и культуральные свойства вирусов Уметь: Для достижения ОПК-2.2 уметь: различать мембранные процессы и молекулярные механизмы бактериальной клетки Владеть: Для достижения ОПК-2.3 владеть: навыками приготовления бактериальных препаратов, окраски препаратов в зависимости от исследуемых структур

### 3. СОДЕРЖАНИЕ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

#### 3.1. Виды оценочных средств

Виды оценочных средств по дисциплине представлены в таблице 2.

Таблица 2. Виды оценочных средств по дисциплине

№ п/п	Код компетенции, планируемые результаты обучения	Контролируемые темы, разделы	Наименование оценочного средства для текущего контроля	Наименование оценочного средства на промежуточной аттестации/ № задания
1	<b>УК-1</b> Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	Введение. Предмет и задачи микробиологии. Значение микроорганизмов в жизнедеятельности человека. Микроорганизмы как редуценты, участие в экологических процессах	Собеседование	Вопросы к экзамену № 1-14
2	<b>УК-1</b> Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	Бак. лаборатория, устройство, отделы, режим работы. Морфология бактерий. Методы микроскопии. Окраска бактерий.	Собеседование	Вопросы к экзамену № 15-24



3	<b>УК-1</b> Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	Классификация и систематика микроорганизмов. Основные различия между эу- и прокариотами. Ультраструктура бактерий, методы выявления.	Собеседование Тест (Коллоквиум №1)	Вопросы к экзамену № 25-46
4	<b>ОПК-1</b> Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	Физиология бактерий. Основы метаболизма. Пластический и энергетический метаболизм Ферменты бактерий, их определение. Факторы, губительнодействующие на бактерии.	Собеседование, тест, коллоквиум (тест)	Вопросы к экзамену № 47-59
5	<b>ОПК-2</b> Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания	Генетика бактерий. Нуклеоид и внехромосомные факторы наследственности. Передача наследственной информации. Изменчивость бактерий. Бактериофаги.	Собеседование, тест	Вопросы к экзамену № 60-67
6	<b>УК-1</b> Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	Микробы и инфекционный процесс. Патогенность и вирулентность бактерий. Специфическая профилактика инфекционных заболеваний	Собеседование	Вопросы к экзамену № 68-77
7	<b>ОПК-2</b> Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания	Антигенный состав бактерий. Иммунологические методы исследования микроорганизмов	Собеседование Коллоквиум (по билетам)	Вопросы к экзамену № 78-88



8	<b>ОПК-2</b> Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания	Бактериологический (культуральный) метод исследования бактерий, его этапы. Преимущества метода. Особенности культурального исследования анаэробов	Собеседование Коллоквиум	Вопросы к экзамену № 89-96
9	<b>ОПК-1</b> Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	Природа и происхождение вирусов. Культуральные свойства вирусов. Значение вирусов в жизнедеятельности человека. Морфология, структура и химический состав вирионов	Собеседование	Вопросы к экзамену № 97-105
10	<b>ОПК-1</b> Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	Генетика вирусов. Структурная организация и стратегия вирусного генома. Изменчивость вирусов. Репродукция вируса, взаимодействие вируса с клеткой	Собеседование	Вопросы к экзамену № 106-117
11	<b>ОПК-1</b> Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	Патогенез вирусных инфекций. Факторы патогенности вирусов. Роль вирусов в возникновении иммунологических реакций и в канцерогенезе. Значение макроорганизма.	Собеседование	Вопросы к экзамену № 118-125



12	<b>ОПК-1</b> Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач	Методы изучения вирусов. Принципы диагностики вирусных инфекций	Собеседование	Вопросы к экзамену № 126-142
----	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------	---------------	------------------------------

Типовые задания, критерии и показатели оценивания в рамках текущего контроля представлены в рабочей программе дисциплины. Полные комплекты оценочных средств и контрольно-измерительных материалов хранятся на кафедре.

### 3.2 Содержание оценочных средств

#### 3.2.1. Вопросы к экзамену

##### 1. Предмет и задачи микробиологии.

(Предмет микробиологии - морфология, физиология, генетика, систематика, экология микроорганизмов и их взаимоотношения с другими формами жизни. Задачи медицинской микробиологии: 1. Изучение биологии патогенных (болезнетворных) и нормальных для человека микробов.

2. Изучение роли микробов в возникновении, развитии инфекционных (заразных) болезней и формировании иммунного ответа макроорганизма ("хозяина"). 3. Разработка методов микробиологической диагностики (распознавания), специфического лечения и профилактики (предупреждения) инфекционных болезней человека.)

##### 2. Разделы микробиологии

(Микробиология является комплексом наук. Различают следующие разделы: бактериологию, вирусологию, микологию (объект - грибы), протозоологию (объект - простейшие). По целям изучения микробиология делится на общую, медицинскую, санитарную, ветеринарную, промышленную, космическую и др.)

3. Донаучный этап развития микробиологии, вклад Гиппократ, Джироламо Фракастори и др. (Гиппократ (460-377гг. до н.э.) предполагал, что заразные болезни вызываются невидимыми живыми существами. Джироламо Фракастори (1478-1553), предположил, что инфекции вызывают маленькие тельца, передающиеся при контакте и сохраняющиеся на вещах больного. Однако в то время невозможно было удостовериться в правильности его идей, и распространение получили совершенно иные гипотезы.)

##### 4. Описательный этап, вклад Галлилео Галлилея, Антони ван Левенгука, Христиан Готфрид Эренберга

(В 1610 году Галилеем создан первый микроскоп. 1665 год Роберт Гук впервые увидел растительные клетки, 1676 год Антони ван Левенгук микроскопировал каплю воды, и дал описание увиденных там существ, в том числе бактерий. Христиан Готфрид Эренберг описал множество пигментированных бактерий, первые железобактерии, а также скелеты простейших



и диатомовых водорослей в морских и лиманных отложениях, чем положил начало микропалеонтологии. Именно он впервые объяснил окраску воды Красного моря развитием в ней цианобактерий *Trichodesmium erythraeum*. Он, однако, причислял бактерий к простейшим и рассматривал их вслед за Левенгуком как полноценных животных с желудком, кишечником и конечностями. В течение следующих 100—150 лет развитие микробиологии проходило лишь с описанием новых видов.)

#### 5. Суть опытов Луи Пастера, его вклад в развитие микробиологии

(За короткий период с 1857 по 1885 г. Пастер доказал, что брожение (молочнокислородное, спиртовое, уксуснокислородное) не является химическим процессом, а его вызывают микроорганизмы; опроверг теорию самозарождения; открыл явление анаэробногниения, т.е. возможность жизни микроорганизмов в отсутствие кислорода; заложил основы дезинфекции, асептики и антисептики; открыл способ предохранения от инфекционных болезней с помощью вакцинации. Многие открытия Л. Пастера принесли человечеству огромную практическую пользу. Путем прогревания (пастеризации) были побеждены болезни пива и вина, молочнокислых продуктов, вызываемые микроорганизмами; для предупреждения гнойных осложнений ран введена антисептика; на основе принципов Л. Пастера разработаны многие вакцины для борьбы с инфекционными болезнями. Однако значение трудов Л. Пастера выходит далеко за рамки только этих практических достижений. Л. Пастер вывел микробиологию и иммунологию на принципиально новые позиции, показал роль микроорганизмов в жизни людей, экономике, промышленности, инфекционной патологии, заложил принципы, по которым развиваются микробиология и иммунология и в наше время).

#### 6. Роль Л.С. Ценковского, Д.С. Самойловича в развитии микробиологии

(В России одним из первых микробиологов был Л.С. Ценковский (1822-1887), описавший большое число простейших, водорослей и грибов и сделавший вывод об отсутствии резкой границы между растениями и животными. Им также была организована одна из первых Пастеровских станций и предложена вакцина против сибирской язвы. Д.С. Самойлович (1744-1801) врач-эпидемиолог, который был убежден, что болезни вызываются именно микроорганизмами, однако тщетно пытался увидеть в микроскоп возбудителя чумы — возможности оптики тогда ещё не позволяли это сделать).

#### 7. Гёнрих Гёрман Роберт Кох и его вклад в развитие микробиологии

(Роберт Кох — современник Пастера — внес огромный вклад в развитие медицинской микробиологии, открыл и изучил возбудителей таких тяжелых инфекционных заболеваний человека, как туберкулез и холера. Микробиологическая наука обязана Коху совершенствованием методов микробиологической техники: он предложил способы окраски микроорганизмов, которые помогли изучить строение многих микробов, использовал при микроскопии освещение (осветитель Аббе), ввел микрофотографирование. Методы микробиологических исследований, разработанные Кохом, позволили получить чистую культуру возбудителей инфекционных болезней (микроорганизмы только одного вида). Это стало возможным при выращивании микроорганизмов на плотных питательных средах, предложенных Кохом. На этих средах можно получить из одной клетки популяцию микроорганизмов, растущую в виде колонии. Появилась возможность изучить не только морфологию, но и физиологические и биохимические свойства микробов, определить их способность вызывать заболевания у экспериментальных животных. Указанные методы за 10—20 лет позволили открыть, описать и изучить многих возбудителей инфекционных заболеваний



и послужили основой формирования медицинской микробиологии. Кох пытался приготовить из туберкулезной палочки препарат для лечения этого заболевания — туберкулин, представляющий продукт жизнедеятельности возбудителя. Однако туберкулин был неэффективен при лечении заболевания. В настоящее время он успешно применяется с диагностической целью (пробы Пирке и Манту), выявляя зараженность человека туберкулезными микобактериями).

#### 8. Опыты Ганса Христиана Грама, его вклад в развитие микробиологии

(Биолог Ганс Христиан Грам разработал один из самых значимых методов окраски, который используется в микробиологии для идентификации бактерий в поле микроскопа. Это было революционное для тех лет достижение, позволившее внедрить систему классификации и изучения более 30 000 известных на то время видов бактерий. Совместная работа с немецким патологом и микробиологом Карлом Фридландером привела к разработке техники окраски, известной всему миру как окраска по Граму. Вначале Грам раскапал реагенты на образцы легочной ткани. Он обнаружил различия в окраске бактерий, которые мы в настоящий момент знаем как *Streptococcus pneumoniae* и *Klebsiella pneumoniae*. Отличия, которые обнаружил Грам, обуславливаются разным составом бактериальной клеточной стенки. В то время как разделение бактерий на «Г»+ и «Г» является одним из ключевых моментов в системе идентификации микроорганизмов, исследователи возражали, что метод окраски по Граму неточен и “плохо поддается контролю и стандартизации” – об этом предупреждал и сам создатель, когда опубликовал свою работу в 1884 году. “Я опубликовал метод, хоть я и понимаю его несовершенство”, отмечал Грам. - “Но я надеюсь, что в руках других исследователей он покажет свою пользу”).

#### 9. Экологическая роль и многообразие микробиологических процессов по концепциям Бейеринка и С.Н. Виноградского

(Изучению роли микроорганизмов в природных процессах на нашей планете посвящены работы русского ученого Сергея Николаевича Виноградского (1856—1953) и голландского исследователя Мартина Бейеринка (1851-1931). Независимо друг от друга эти ученые изучали группы микроорганизмов, способных осуществлять химические превращения основных элементов и участвовать в биологически важных круговоротах на Земле. С. Н. Виноградский работал с микроорганизмами, использующими неорганические соединения серы, азота, железа, и открыл уникальный образ жизни прокариотических микроорганизмов — хемолитоавтотрофию, при которой микробная клетка для получения энергии окисляет восстановленные неорганические соединения, а для биосинтезов использует углерод углекислого газа. К такому способу существования не способны ни животные, ни растения. Виноградский и Бейеринк открыли также способность некоторых прокариот фиксировать атмосферный молекулярный азот, т.е. использовать его в своем конструктивном обмене. Учеными были выделены свободноживущие и симбиотические микроорганизмы-азотфиксаторы. При этом была показана глобальная роль таких микроорганизмов в цикле азота: микроорганизмы использовали газообразный азот для синтеза компонентов клетки, тем самым переводя его в связанные формы, становящиеся доступными для других организмов после отмирания клеток азотфиксаторов).

#### 10. Роль Д.И. Ивановского в развитии вирусологии

(12 февраля 1892 г. на заседании Российской академии наук Дмитрий Ивановский сообщил, что возбудителем мозаичной болезни табака является фильтрующийся вирус. Эту дату многие отечественные учёные считают днем рождения вирусологии, а Д.И.Ивановского - ее



основоположником. Ивановский выяснил, что сок, полученный из растений табака, больных мозаичной болезнью, и пропущенный через задерживающий бактерии фарфоровый фильтр, сохранял способность заражать здоровые растения. Исходя из этого факта, ученый предположил, что данный фильтрат содержит либо мельчайшие бактерии, либо выделенные ими ядовитые вещества - токсины. Спустя 6 лет нидерландский микробиолог Мартин Виллем Бейеринк получил сходные результаты и ввел понятие "фильтрующийся вирус". Первое слово из этого названия со временем отпало, а второе обрело свое современное значение. Сам Бейеринк предполагал, что фильтрующийся вирус - это жидкое "заразное начало". Д.И.Ивановский придерживался мнения, что оно твердое.)

#### 11. Открытие А. Флеминга, его роль в микробиологии и медицине

(Английский микробиолог Александра Флеминг в 1922 г. открыл лизоцим. В 1929 г. открытие антибиотика, выяснил, что один из видов плесневого гриба выделяет антибактериальное вещество — пенициллин. Применение пенициллина в медицине).

#### 12. Суть современного молекулярно-генетического этапа развития микробиологии и вирусологии

(Современный молекулярно-генетический этап развития микробиологии, вирусологии и иммунологии начался во второй половине 20 века в связи с достижениями генетики и молекулярной биологии, созданием электронного микроскопа. В опытах на бактериях была доказана роль ДНК в передаче наследственных признаков. Расшифровка генома кишечной палочки сделало возможным конструирование и пересадку генов. К настоящему времени генная инженерия создала новые направления биотехнологии. Расшифрованы молекулярно-генетическая организация многих вирусов и механизмы их взаимодействия с клетками, установлены способность вирусной ДНК встраиваться в геном чувствительной клетки и основные механизмы вирусного канцерогенеза. Открыты новые классы инфекционных агентов — вириды и прионы).

#### 13. Значение микроорганизмов в жизнедеятельности человека.

(Роль в эволюционном процессе. Роль в круговороте веществ в природе. Полезная роль представителей нормальной микрофлоры: участие в процессах пищеварения, витаминсинтезирующая функция, антагонизм по отношению к гнилостной флоре, уничтожение опухолевых клеток и др. Использование микроорганизмов в различных отраслях промышленности. Микроорганизмы как возбудители инфекционных заболеваний).

#### 14. Микроорганизмы как редуценты, участие в экологических процессах.

(Редуценты (также деструкторы, сапротрофы, сапрофиты, сапрофаги) — микроорганизмы (бактерии и грибы), разрушающие отмершие остатки мёртвых существ, превращающие их в неорганические соединения и простейшие органические соединения – третье звено цепи питания. Все звенья цепи питания взаимосвязаны и взаимозависимы. Между ними от первого к последнему осуществляется передача вещества и энергии. Общие звенья связывают цепи питания в сложную систему. В результате в каждом биоценозе исторически формируются комплексы цепей питания, представляющие собой единое целое. Так создаются циклы, или сети, питания. Если принять во внимание, что практически каждый организм цепи питания выступает в роли хозяина по крайней мере одного, а чаще нескольких паразитов, составляющих в свою очередь звенья других цепей, то нетрудно вообразить всю сложность циклов питания биоценоза. Основные функции пищевой цепи – пере-



нос веществ и энергии в экосистемах. Пищевые цепи перекрещиваются, образуя пищевую сеть (трофическую сеть)).

#### 15. Устройство бак. лаборатории, отделы, режим работы.

Бактериологическая лаборатория — учреждение, выполняющее различные микробиологические исследования: бактериологические, иммунологические и др. Такие лаборатории могут быть организованы при лечебно-профилактических учреждениях; центрах гигиены и эпидемиологии; научно-исследовательских институтах. В бактериологических лабораториях проводят анализы с различной целью: диагностические, профилактические, по эпидемическим показаниям.

В лаборатории должен быть проведен водопровод, должно иметься не менее двух раковин; из приборов необходимы термостат, холодильник, микроскопы, лупы, фильтровальные установки и т. п. Лаборатория делится на чистую и «грязную» (заразную) зоны. В грязной зоне размещают бокс с предбоксом — изолированное помещение, где проводят работу в асептических условиях. С целью уменьшения движения воздуха двери в боксе и предбоксе должны быть раздвижными на роликах и закрываться герметически. Стол в боксе должен иметь легко дезинфицируемую поверхность (линолеум, пластик). На столе размещают горелку, спички, цинковый или эмалированный лоток, банку с дезинфицирующим (обеззараживающим) раствором и др. Перед работой пустой бокс подвергают облучению бактерицидными (ультрафиолетовыми) лампами в течение 20-30 минут. Лампы устанавливают на расстоянии 2-2,5 м от поверхности пола. Чистая зона: комната для приготовления питательных сред — помещение, где готовят и разливают питательные среды; гардероб, туалет, зона для приёма пищи, кабинеты для работы с документами).

#### 16. Морфологические формы бактерий

(Кокки и палочки (различные их вариации: монококки, диплококки, стрептококки, стафилококки, сарцины, монобациллы, диплобациллы, стрептобациллы) и спиралевидные формы).

#### 17. Методы определения морфологии бактерий

(Иммерсионная микроскопия, темнопольная, фазово-контрастная, аноптральная, люминисцентная, электронная, конфокальная лазерная сканирующая).

#### 18. Устройство и принцип работы иммерсионного микроскопа

(Иммерсионная микроскопия – это методика микроскопического исследования различных объектов, основанная на введении между объективом и предметным стеклом иммерсионных жидкостей. Данный иммерсионный метод микроскопии применяется для того, чтобы свет проходил через рассматриваемый предмет, иммерсионную жидкость, при этом луч не преломлялся. Благодаря этому происходит получение изображения более высокого качества и разрешения).

#### 19. Устройство и принцип работы темнопольного микроскопа

(Темнопольный микроскоп отличается от обычного светового способом освещения препарата. В этом случае применяют боковое освещение, в силу чего получается изображение светящегося объекта на темном фоне. Принцип темного поля основан на том, что падающие сбоку световые лучи отклоняются плотными частицами (в частности, микробами) и последние благодаря этому представляются глазу наблюдателя ярко светящимися. Боковое освещение в микроскопе можно получить, заменив, обычный осветитель специальным конденсором с затемнением в центре. Такой конденсор задерживает все центральные лучи света и пропускает лишь периферические. Техника исследований заключается в следующем. На предметное стекло наносят каплю материала и осторожно накрывают покровным стек-



лом, чтобы не было пузырьков газа. Затем на поверхность конденсора помещают каплю воды или кедрового масла, и предметное стекло с препаратом кладут на эту каплю).

#### 20. Устройство и принцип работы люминесцентного микроскопа.

(Принцип действия люминесцентных микроскопов заключается в получении изображения посредством светового потока свечения самого объекта исследования. Свет, прошедший сквозь возбуждающий светофильтр в устройстве микроскопа, вызывает свечение объекта, данный световой поток затем проходит через запирающий светофильтр, где отсекается возбуждающее излучение, и остается только люминесцентный, то есть световой поток свечения объекта. Устройство флуоресцентных микроскопов «Альтами» подобно конструкции металлографических (работающих по методу светлого поля в отраженном свете\*), но есть несколько функциональных различий: источником света здесь выступает ртутная лампа вместо галогенной; имеются блоки со светофильтрами и дихроичным зеркалом. Дихроичное (полупрозрачное) зеркало в осветительной системе микроскопа в данном случае нужно для того, чтобы отражать световой поток от источника света, направляя его в объектив, который освещает объект, и пропускать свет, затем отраженный от объекта и вновь прошедший через объектив).

#### 21. Разрешающая способность микроскопов.

(Разрешающая способность микроскопа — это способность выдавать чёткое раздельное изображение двух близко расположенных точек объекта. Степень проникновения в микромир, возможности его изучения зависят от разрешающей способности прибора. Эта характеристика определяется прежде всего длиной волны используемого в микроскопии излучения (видимое, ультрафиолетовое, рентгеновское излучение).

#### 22. Красители, применяемые в бактериологии

(Для окрашивания микроорганизмов используют анилиновые красители (основные, кислые и нейтральные). Микроорганизмы лучше окрашиваются основными красками. Для окраски препаратов готовят спиртовые, водно-спиртовые и водные растворы. В некоторых случаях добавляют в качестве протравы карболовую кислоту, щелочь и др. Наиболее часто употребляемыми красителями являются следующие: синие - метиловый синий, водный синий, опаловый синий; красные - фуксин основной, конго красный, сафранин, нейтральный красный, фуксин кислый; фиолетовые - метиловый фиолетовый, кристаллический фиолетовый, генцианвиолет; зеленые - малахитовый зеленый, бриллиантовый зеленый, светло-зеленый; желто-коричневые - хризолин, везувин).

#### 23. Простая окраска бактерий (суть метода)

(Простыми методами окрашивания называют окрашивание препаратов каким-либо одним красителем. Некоторые микроорганизмы (спирохеты), плохо выявляемые с помощью позитивных красителей, легко выявляются при окрашивании негативными красителями).

#### 24. Этапы приготовления и окрашивания бактериальных препаратов

(Фиксированный препарат помещают на параллельные стеклянные рейки (мостик), которые лежат над кюветой. На мазок наносят с помощью капельницы 1 % водный раствор фуксина или метиленового синего на 1–2 мин. Следят за тем, чтобы во время окрашивания раствор красителя не подсыхал. После завершения окрашивания, краситель сливают. Препарат промывают водой до тех пор, пока стекающая вода не станет бесцветной. Затем препарат высушивают. Для этого нижнюю сторону препарата промокают фильтровальной бумагой, а верхнюю сторону осторожно обсушивают с боков, не затрагиваясь до мазка. Препарат окончательно досушивают на воздухе или высоко над пламенем спиртовки. Для получения более чистых препаратов краситель наносят



на мазок, покрытый фильтровальной бумагой. Метод окрашивания в модификации

Синева позволяет использовать вместо раствора красителя заранее пропитанную им фильтровальную бумагу. В правильно окрашенном и хорошо промытом препарате поле зрения светлое и чистое, окрашены только клетки).

25. Эволюция систем классификации живых организмов  
(Геккель (1894) Три царства (животные, растения, протисты), Уиттекер (1969) Пять царств (животные, растения, простейшие, грибы, бактерии), Вёзе (1977) Шесть царств (животные, растения, грибы, хромисты, эубактерии, археи), Кавалье-Смит (1998) Animalia, Protozoa, Fungi, Plantae (включая глаукофиты, красные и зеленые водоросли), Chromista и Bacteria. Кавалье-Смит и его сотрудники пересмотрели классификацию в 2015 году и опубликовали ее в PLOS ONE. В этой схеме они представили разделение прокариот на два царства: бактерии (= эубактерии) и археи (= архебактерии). Это основано на консенсусе в Таксономическом описании бактерий и архей (ТОБА) и Каталоге жизни).

26. Классификация бактерий, вклад Дэвида Берджи  
(Американский микробиолог Д. Берджи выпустил первый международный определитель бактерий, который впоследствии дополнялся и изменялся. По классификации Берджи бактерии делятся на 4 отдела:

1. Грациликуты - бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамтрицательные. Среди них различают извитые формы, палочковидные, шаровидные (гонококки и менингококки), риккетсии и хламидии.

2. Фирмикуты - бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные, включающие большинство шаровидных (стафилококки, стрептококки и др.) и разнообразные палочковидные бактерии, а также актиномицеты (ветвящиеся бактерии), коринебактерии (булавовидные бактерии), микобактерии и бифидобактерии.

3. Тенерекуты - бактерии с нежной клеточной стенкой, «мягкие» бактерии, включающие микоплазмы.

4. Мендозикуты, так называемые архебактерии, отличающиеся дефектной клеточной стенкой и особенностью строения элементов клетки (рибосом, мембран и рибосомных РНК). Обитают в биотопах с экстремальными условиями (метанообразующие бактерии, термоацидофильные (растут при 75 – 95о и низком рН), экстремально галофильные (растут в присутствии 12 – 32% NaCl)).

27. Современные принципы систематики (номенклатуры и таксономии) бактерий

(Раздел систематики, изучающий принципы классификации, называется таксономией (от греч. taxis. расположение, порядок). Таксон - группа организмов, объединенная по определенным однородным свойствам в рамках той или иной таксономической категории. Самой крупной таксономической категорией является царство, более мелкими подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид и др. Образование названий микроорганизмов регламентируется Международным кодексом номенклатуры (зоологической, ботанической, номенклатуры бактерий, вирусов). В основе таксономии микроорганизмов положены их морфологические, физиологические, биохимические, молекулярно-биологические свойства. Согласно современной систематике, патогенные (болезнетворные) бактерии относятся к надцарству прокариотов (Procarvotae), царству эукариот (Eucaryotae), грибы — к царству микота (Mycota), простейшие — к царству Protozoa, вирусы — к царству Vira).

28. Фенотипическая или нумерическая таксономия



(Фенотипическая или нумерическая таксономия использует широкий диапазон признаков характерных для бактерии (окраска по Граму, форма и размер клетки, подвижность, наличие капсулы, тип дыхания, биохимическая активность, антигенные свойства, чувствительность к бактериофагам, антибиотикам и др.). Установление сходства или различия между бактериями основывается на расчетах коэффициента подобия. Шкала измерения варьирует от 0 до 1 или от 0 до 100% (где 1 или 100%) означают полную идентичность. Так, если для типирования чистой культуры микроба используется 100 признаков и изолят А имеет сходство по 80 из них с изолятом В, то коэффициент подобия 80% или 0.8).

### 29. Геносистематика

(Объединение бактерий на основе степени сходства геномов. Важнейшими из них являются молекулярно-генетические критерии (молярное содержание Г+Ц, сходство последовательностей оснований в 16S, 18S и 23S РНК, риботипирование, секвенирование).

### 30. Род, вид, подвида, штамм, типовой штамм, изолят, чистая культура

**Род** – совокупность близкородственных видов. Каждый род имеет типовой вид, на основе которого он формируется. Вид *Escherichia coli* является типовым для рода *Escherichia*, а *Corynebacterium diphtheria* – типовым видом рода *Corynebacterium*. **Вид** – совокупность популяций бактерий, имеющих общее происхождение, экологическое единство, обладающих сходным обменом веществ и энергии, близких между собой по строению генома, морфологическим и биохимическим свойствам и отличающихся от других видов. **Подвид** – совокупность популяций бактерий определенного вида, отличающихся рядом признаков, которые не препятствуют их объединению в вид. Каждый вид бактерий имеет **типовой штамм**, который является своеобразным его эталоном. Типовые штаммы имеют наиболее полную биологическую характеристику и хранятся в специальных коллекциях. **Штамм** – изолят или группа изолятов с одинаковыми фенотипическими и/или генотипическими признаками, относящиеся к определенному виду и имеющие отличия от других изолятов этого вида. **Чистая культура** – популяция бактерий, состоящая из особей одного вида. Смешанная культура – совокупность популяций бактерий разных видов. Термином «популяция» обозначают совокупность бактерий одного вида, вегетирующих в определенном биотопе или выращенных на искусственной питательной среде из одной или нескольких клеток).

### 31. Основные отличия прокариот, эукариот и вирусов

(Прокариоты отличаются от эукариот по ряду основных признаков: 1. Отсутствие истинного ядра ядерной мембраны, гистонов. Хромосома в кольце, 2. Отсутствие развитой эндоплазматической сети, аппарата Гольджи. 3. Отсутствие митохондрий, хлоропластов, лизосом. 4. клеточная стенка – пептидогликан 5. Размножение бинарное в отличие от митоза и мейоза. 6. Значительно меньшие размеры 7. Тип дыхания как аэро так и анаэробное. Вирусы — это не клеточные формы жизни, всегда внутриклеточные паразиты. Они способны размножаться только в чужой клетке, потому что сами состоят только из одного типа нуклеиновой кислоты и белковой или белково-липидной оболочки. Вирусы собственного обмена веществ не имеют.)

### 32. Ультраструктура бактерий

(Капсула или капсулоподобная оболочка - липидо-полисахаридное образование, сравнительно непрочное связанное с поверхностью клетки, вследствие чего в отличие от капсулы может выделяться в окружающую среду. Клеточная стенка биогетерополимер сложного химического состава, который покрывает всю поверхность прокариотической клетки. Жгутики. Пили. Цитоплазматическая мембрана. Цитоплазма у прокариот, так же как и у эукариот, представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую из воды (около 75%), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК,



которые входят в состав органелл нуклеоида, рибосом, мезосом, включений. Нуклеоид. Рибосомы. Включения).

### 33. Строение и функции капсул

(Капсулы состоят, главным образом из воды (90-98%), из полисахаридов, но могут содержать и полипептиды (сибиреязвенные бациллы). Микрокапсула – слизистое образование толщиной менее 0,2 мкм, выявляемое лишь при электронной микроскопии в виде микрофибрилл из мукополисахаридов, которые тесно прилегают к клеточной стенке. Функции: защитная, предохраняя клетку от неблагоприятных условий среды обитания, и адгезивная, способствуя «прилипанию» к поверхности (рецепторам) клетки хозяина. Капсулы предохраняют бактериальные структуры, активирующие систему комплемента, а также структуры, распознаваемые иммунокомпетентными клетками. Гидрофильность капсул затрудняет поглощение их фагоцитами, а само капсульное вещество защищает бактерию от действия лизосомальных ферментов и токсичных пероксидов фагоцитирующих клеток).

### 34. Методы выявления капсул

(Методы негативного контрастирования, метод Бури-Гинса, феномен набухания капсулы).

### 35. Строение и функции клеточных стенок

(У грамположительных бактерий пептидогликан связан с тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами за счет чего он имеет многослойную структуру. У грамотрицательных бактерий пептидогликан однослойный и покрыт наружной мембраной с мозаичным строением. Функции: защищает бактерии от внешних воздействий, придает им характерную форму, поддерживает постоянство внутренней среды и участвует в делении. Через клеточную стенку бактерий осуществляется транспорт питательных веществ и выделение метаболитов. На поверхности клеточной стенки располагаются рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов и различных химических веществ. Структура и состав элементов клеточной стенки определяет антигенную характеристику бактерий (по структуре O- и Vi-Аг). Клеточная стенка способна по-разному воспринимать красители; на этом основаны тинкториальные свойства бактерий. Нарушение синтеза компонентов клеточной стенки приводит к гибели бактерии или образованию L-форм).

### 36. Методы выявления строения клеточных стенок

(Метод Грама, Циля-Нильсена, тест Греггерсена)

### 37. Сложные методы окраски бактерий: метод Грама, его механизм, различие клеточных стенок Грам (+) и Грам (-) бактерий; метод Бурри – Гинса

(Метод Грама. При окраске генцианвиолетом и последующем воздействии раствора Люголя образуется комплексное соединение генцианвиолета и йода с пептидогликаном, которое при обработке спиртом удерживается в клетках грамположительных бактерий, имеющих многослойный пептидогликан и вымывается из грамотрицательных бактерий, имеющих тонкий слой пептидогликана. При дополнительной окраске водным раствором фуксина грамотрицательные бактерии приобретают красный цвет. Метод Бурри – Гинса используется для определения наличия капсулы: препарат окрашивают тушью, которая дает темный фон (негативный контраст) и докрашивают фуксином. На темном фоне видны окрашенные клетки бактерий, окруженные прозрачной зоной неокрашенной капсулы).

### 38. Строение и функции цитоплазматической мембраны

(ЦМ является жизненно необходимым структурным компонентом бактериальной клетки. Она



ограничивает протопласт, располагаясь непосредственно под клеточной стенкой).

#### 39. Строение и функции нуклеоида и плазмид

(Нуклеоид является эквивалентом ядра эукариот, хотя отличается от него по своей структуре и химическому составу. Он лишен ядерной мембраны, не содержит хромосом, не делится митозом. В составе нуклеоида отсутствуют основные белки-гистоны. Исключение составляют только некоторые бактерии. В нем содержится двунитевая кольцевая молекула ДНК, а также небольшое количество РНК и белков. Плазмиды — внехромосомные мобильные генетические структуры бактерий, представляющие собой замкнутые кольца двунитчатой ДНК. По размерам составляют 0,1—5 % ДНК хромосомы. Плазмиды способны автономно реплицироваться и существовать в цитоплазме клетки, поэтому в клетке может быть несколько копий плазмид. Плазмиды могут включаться (интегрировать) в хромосому и реплицироваться вместе с ней. Различают трансмиссивные и нетрансмиссивные плазмиды. Трансмиссивные (конъюгативные) плазмиды могут передаваться из одной бактерии в другую. Плазмиды кодируют: 1) устойчивость к антибиотикам; 2) образование колицинов; 3) продукцию факторов патогенности; 4) способность к синтезу антибиотических веществ; 5) расщепление сложных органических веществ; 6) образование ферментов рестрикции и модификации.)

#### 40. Строение и функции рибосом

(Рибосомы у бактерий представляют собой рибонуклеопротеиновые частицы размером 20 нм, состоящие из двух субъединиц 30S и 50S. Перед началом синтеза белка происходит объединение этих субъединиц в одну - 70S. Функции – синтез белка)

#### 41. Строение и функции запасных питательных гранул

(Включения являются продуктами метаболизма про- и эукариотических микроорганизмов, которые располагаются в их цитоплазме и используются в качестве запасных питательных веществ. К ним относятся включения гликогена, крахмала, серы, полифосфата (волютина) и др).

#### 42. Методы выявления углеводных, липидных, полифосфатных и белковых гранул

(Гранулы углеводной природы (полисахариды) выявляют при обработке клеток раствором Люголя. Гранулы крахмалоподобных веществ — гранулезы — окрашиваются в синий, а гранулы гликогенподобных полисахаридов — в красновато-коричневый цвет. Липидные гранулы. У дрожжей и мицелиальных грибов запасные липиды представлены нейтральными жирами, которые легко обнаруживаются в живых клетках без специальных методов окраски в виде сильно преломляющих свет капель. Бактерии в качестве резервных липидов образуют поли-β-оксимасляную кислоту. Гранулы поли-β-оксибутирата хорошо заметны при микроскопировании живых бактериальных клеток с фазово-контрастным устройством, однако чаще для их выявления клетки окрашивают липофильными красителями — Суданом III или Суданом черным. Полифосфаты (волютин и метахроматин). Окраска волютиновых гранул основана на свойстве метахромазии — способности вызывать изменение цвета некоторых красителей (метиленовый синий, толуидиновый синий). Окраска по Леффлеру. Белковые гранулы окрашивают красителями для шерсти (амидошварцем)).

#### 43. Метод Нейссера для обнаружения включений волютина

(На фиксированный мазок нанести ацетат синьки Нейссера на 2—3 мин. Добавить раствор Люголя на 10—30 с. Промыть препарат водой. Докрасить водным раствором везувина или хризоидина в течение 0,5—1 мин. Промыть препарат водой, высушить и микроскопировать. Зерна волютина



представляют собой включения полифосфатов, имеющие в отличие от цитоплазмы щелочную реакцию, и поэтому избирательно воспринимают ацетат синьки, окрашиваясь в темно-синий цвет. Цитоплазма клетки, обладающая кислой реакцией, воспринимает щелочной краситель везувин и окрашивается в желтый цвет).

#### 44. Строение и функции приспособительных органелл: мезосомы, карбоксисомы, фикобиллисомы, газовые вакуоли, магнитосомы.

(Мезосомы являются производными ЦМ. Они имеют неодинаковое строение у разных бактерий, располагаясь в разных частях клетки либо в виде концентрических мембран, либо пузырьков, трубочек, либо в форме петли, характерной в основном для грамотрицательных бактерий. Мезосомы связаны с нуклеоидом. Они участвуют в делении клетки и спорообразовании. Фикобилисомы – у цианобактерий, в них – фикобилипротеиды. Располагаются правильными рядами на внешн. Поверхностях фотосинтетических мембран – уплощенных замкнутых дисков (тилакоидов). Имеют вид гранул в виде полусферы или цилиндра. Аэросомы (газовые вакуоли) Кажд. аэросома сост. из многочисл. продолговатых пузырьков, которые имеют форму веретена с заостренными концами. Они регулярно расположены и образуют структурированную структуру типа пчелиных сот. Мембраны пузырьков проницаемы для газов, но непроницаемы для воды. Аэросомы позволяют клеткам находиться во взвешенном состоянии в водной среде При сжатии аэросом клетки опускаются, при расширении – всплывают. Карбоксисомы (полиэдральные тела). Имеют форму многогранника с 4-6 сторонами и диаметром 90 - 500нм. Состав – рибулозо-1,5-бифосфаткарбоксилаза – ферм., катализирующий фиксацию CO<sub>2</sub> на рибулозобифосфате в цикле Кальвина. Имеют белковую мембрану толщиной 3 нм. Магнитосомы - непрозрачные частицы определенной геометрической формы (кубы, октаэдры, др.), заполнены железом в форме магнетита (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). Располагаются около мест прикрепления жгутиков. Встречается у палочек, кокков, спирил. Обеспечивают магнитотаксис - движение по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита. Хлоросомы у зеленых бактерий. Продолговатые пузырьки, окружены однослойной мембраной из белка. асполагаются вблизи ЦПМ и плотно к ней примыкают. В них находится бактериохлорофилл с, d и e)

#### 45. Спорообразование у бактерий. Химический состав споры. Методы выявления спор

(Споры (эндоспоры) бактерий — особый тип покоящихся репродуктивных клеток, характеризующихся резко сниженным уровнем метаболизма и высокой резистентностью. Бактериальная спора формируется внутри материнской клетки и называется эндоспорой. Способностью к образованию спор обладают преимущественно палочковидные грамположительные бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*, из шаровидных бактерий — лишь единичные виды, например, *Sporosarcina ureae*. Как правило, внутри бактериальной клетки образуется только одна спора. Основная функция спор — сохранение бактерий в неблагоприятных условиях внешней среды. Переход бактерий к спорообразованию наблюдается при истощении питательного субстрата, недостатке углерода, азота, фосфора, накоплении в среде катионов калия и марганца, изменении pH, повышении содержания кислорода и т. д. Процесс образования спор проходит ряд последовательных стадий: 1. подготовительная; 2 стадия предспоры. 3 образование оболочек; 4 созревание споры. Заканчивается образование всех структур споры, она становится термоустойчивой, приобретает характерную форму и занимает определенное положение в клетке. При попадании в благоприятные условия споры прорастают в вегетативные клетки. Выявляют споры окраской по Циллю-Нильсену, по Ожешко, тестом на нагревание, методами негативного контрастирования).



#### 46. Органы движения и фиксации у бактерий: жгутики, пили. Химический состав, строение, методы обнаружения.

(В состав жгутиков входит белок флагелин, который по своей структуре относится к сократимым белкам типа миозина. Жгутики прикрепляются к базальному телу, состоящему из системы нескольких дисков, вмонтированных в цитоплазматическую мембрану и КС. Количество и расположение жгутиков у разных бактерий неодинаково. Монотрихи имеют на одном из полюсов клетки только один жгутик, лофотрихи - пучок жгутиков, у амфитрихов жгутики расположены на обоих полюсах клетки, а у перитрихов - по всей ее поверхности. Пили (синоним ворсинки, фимбрии) - тонкие полые нити белковой природы длиной 0,3-10 мкм, толщиной 10 нм, покрывающие поверхность бактериальных клеток. В отличие от жгутиков не выполняют локомоторную функцию. По своему функциональному назначению подразделяются на несколько типов. Пили 1 общего типа обуславливают прикрепление или адгезию бактерий к определенным клеткам организма хозяина. Их количество велико - от нескольких сотен до нескольких тысяч на одну бактериальную клетку. Адгезия является первоначальной стадией любого инфекционного процесса. Пили 2 типа (синоним: конъюгативные, или половые пили) участвуют в конъюгации бактерий, обеспечивающей перенос части генетического материала от донорной клетки к реципиентной. Они имеются только у бактерий-доноров в ограниченном количестве (1-4 на клетку). Жгутики можно обнаружить косвенно по наличию подвижности и прямыми методами: серебрение по Морозову, по Лёффлеру, пили – при электронной микроскопии).

#### 47. Питание бактерий

(Для осуществления процессов метаболизма питательные вещества проникают в бактериальную клетку извне через цитоплазматическую мембрану, при этом, клеточная стенка не служит препятствием для прохождения ионов и мелких молекул. Мембранные белки - пермеазы или транслоказы – обладают ферментативными свойствами и помогают осуществлять транспорт веществ в клетку. Различают три механизма транспорта, два из них обеспечивают только передачу, но не накопление веществ в клетке. Это простая или пассивная диффузия и облегченная диффузия. Простая диффузия не специфична, для нее имеет значение только величина молекул. Путем простой диффузии в клетку проникают чужеродные для нее вещества – яды, ингибиторы, лекарственные препараты. При облегченной диффузии в клетку проникают те молекулы, концентрация которых в цитоплазме ниже, чем в окружающей среде. Этот процесс осуществляется благодаря субстрат-специфической пермеазе. Затрат энергии при этом не происходит. Третий механизм питания клетки – активный транспорт. Он тоже происходит с участием субстратных белков ферментов, но при этом затрачивается энергия, а проникшие в клетку вещества накапливаются в ней. Молекулы, проникшие в клетку путем активного транспорта через мембрану, претерпевают химические превращения, например, фосфорилирование. По потребности в углеводе бактерии делятся на две большие группы: автотрофы или литотрофы и органотрофы или гетеротрофы).

#### 48. Питательные среды

(Питательные среды принято делить на несколько групп: среды которые отличаются по составу (простые и сложные) и происхождению (естественные, искусственные), физическому состоянию или консистенции (жидкие, полужидкие, плотные, сыпучие, сухие) и функциональному или целевому назначению (основные+универсальные и сложные: селективные, дифференциально-диагностические, транспортные и тд.)).

#### 49. Культуральные свойства бактерий



(К культуральным или макроморфологическим свойствам относятся характерные особенности роста микроорганизмов на плотных и жидких питательных средах. На поверхности плотных питательных сред в зависимости от посева микроорганизмы могут расти в виде колоний, штриха или сплошного газона. Колонией называют изолированное скопление клеток одного вида, выросших из одной клетки (клон клеток). В зависимости от того, где растет микроорганизм (на поверхности плотной питательной среды, в толще ее), различают поверхностные, глубинные и донные колонии. Колонии, выросшие на поверхности среды, отличаются разнообразием, они видоспецифичны и их изучение используется для определения видовой принадлежности исследуемой культуры).

#### 50. Ферменты бактерий, их определение

(Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы. Ферменты микроорганизмов обладают теми же свойствами и функциями, что и ферменты высших организмов. В соответствии с катализирующими реакциями все ферменты разделяют на шесть классов:

1. Оксидоредуктазы - катализируют реакции окисления-восстановления.
2. Трансферазы - катализируют реакции переноса различных групп от донора к акцептору.
3. Гидролазы - катализируют разрыв связей в субстратах с присоединением воды.
4. Лиазы - катализируют реакции разрыва связей в субстрате без присоединения воды или окисления.
5. Изомеразы - катализируют превращения в пределах одной молекулы (внутримолекулярные перестройки).
6. Лигазы (синтетазы) - катализируют присоединение двух молекул с использованием энергии фосфатных связей.

Ферменты энергетического обмена и транспорта питательных веществ локализованы в цитоплазматической мембране и ее производных. Ферменты белкового синтеза связаны с рибосомами. Многие ферменты не связаны с определенными структурами клетки, а находятся в цитоплазме в растворенном виде. Ферменты бактерий подразделяются на экзо- и эндоферменты. Эндоферменты функционируют только внутри клетки. Они катализируют реакции биосинтеза и энергетического обмена. Экзоферменты выделяются клеткой в среду и катализируют реакции гидролиза сложных органических соединений на более простые, доступные для ассимиляции микробной клеткой. К ним относятся гидролитические ферменты, играющие исключительно важную роль в питании микроорганизмов. В зависимости от условий образования ферментов их разделяют на конститутивные и индуцибельные).

#### 51. Конструкция сред «Пестрого ряда»

(Среды «Пестрого ряда» используются для определения сахаролитической активности. В их основу входит мясо-пептонный бульон (или агар) + углевод+ индикатор. При ферментации углеводов выделяются кислые и газообразные продукты, меняется цвет индикатора).

#### 52. Ферменты патогенности

(Ферменты агрессии, разрушают ткани и клетки макроорганизма, обуславливая тем самым распространение патогенных микроорганизмов и их токсинов в инфицированных тканях. К таким ферментам относятся плазмокоагулаза, нейраминидаза, коллагеназа, лецитиназа, гиалуронидаза, ДНКаза, фибринолизин и некоторые другие ферменты. Гиалуронидаза, например, расщепляет гиалуроновую кислоту в мембранах клеток соединительных тканей макроорганизма, что способствует распространению возбудителей и их токсинов в организме, обуславливая высокую инвазивность этих бактерий. Плазмокоагулаза участвует в превращении протромбина в тромбин, который вызы-



вает образование фибриногена, в результате чего каждая бактерия покрывается пленкой, предохраняющей ее от фагоцитоза).

### 53. Дыхание бактерий

(Для осуществления биологических синтезов помимо питательных веществ бактерии нуждаются в определенном количестве энергии. Универсальным аккумулятором химической энергии в клетке является аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), которая образуется в результате дыхания, биологического окисления, основанного на окислительно-восстановительных реакциях или брожении. Молекулы АТФ синтезируются в результате переноса электрона от первичного донора к конечному акцептору. Конечным акцептором электронов, чаще всего, выступает молекулярный кислород,  $O_2$ , и тогда осуществляется аэробное дыхание. Если в качестве акцептора электронов выступают неорганические соединения ( $NO_2, SO_4, SO_3$ ), возникает анаэробное дыхание. По типу дыхания бактерии делят на: строгие (облигатные) аэробы, рост этих микроорганизмов прекращается в отсутствие  $O_2$ . Строгие (облигатные) анаэробы не переносят доступа воздуха, так как образующиеся токсические производные кислорода (перекись водорода, супероксидный и гидроксильный радикалы, синглетный кислород) губительны для самих же бактерий из-за отсутствия у них ферментов (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы), разрушающих эти токсические продукты. Факультативные анаэробы, которые способны использовать в качестве акцепторов электронов как молекулярный кислород, так и органические соединения, а так же переключаются на процесс брожения в отсутствие молекулярного кислорода. Микроаэрофильные бактерии хорошо растут при сниженном парциальном давлении кислорода, но при повышенном содержании  $CO_2$ . Аэрофилы нуждаются в повышенном содержании кислорода).

### 54. Культивирование анаэробов

(Анаэробы – способны развиваться только в отсутствие кислорода. Для культивирования анаэробов нужно создание бескислородных условий. Для этого бактерии засевают уколом в столбик плотной питательной среды, помещают посевы в специальные приборы – анаэростаты, где газовая фаза представлена инертным газом или создан вакуум, а кислород из среды удаляют с помощью кипячения или химических методов. Для выделения чистых культур анаэробов используют среду Китта-Тароцци, а так же культивирование в стеклянных трубках по методу Виньяля-Вейона).

### 55. Питательные среды для анаэробов

(Среды для анаэробов предварительно инактивируют (удаляют из них кислород) физическими, химическими или биологическими методами. Среды разливают высоким столбиком, посев осуществляют глубинным методом в расплавленный агар и по методам Вейнберга, Вейона - Виньяля, Перетца. Примеры сред: среда Китта – Тароцци, Среда Вильсона – Блера, агар Шедлера, Колумбия агар, кровяной агар для бактериодов, сахарный агар, железо-сульфитный агар).

### 56. Факторы, губительно действующие на бактерии

(Физические (температура, влажность, освещение, осмотическое и гидростатическое давление, радиация, ультразвуковые волны), химические (окислители, спирты, щёлочи, галогены, формальдегид и др.), биологические (антибиотики, бактериоцины, бактериофаги)).

### 57. Методы стерилизации лабораторной посуды и питательных сред

(Под стерилизацией понимают обеспложивание, освобождение материалов, растворов, питательных сред от вегетативных и покоящихся форм микроорганизмов. Стерильность - понятие абсолютное, оно означает полное отсутствие микроорганизмов, как на поверхности, так и внутри сте-



рильного объекта. В практике широко используют несколько способов стерилизации: термическая (под действие высоких температур) и холодная (с помощью ультразвука, излучения, фильтрации)).

## 58. Методы дезинфекции

(Дезинфекция — это комплекс мероприятий, направленный на уничтожение возбудителей инфекционных заболеваний и разрушение токсинов на объектах внешней среды для предотвращения попадания их на кожу, слизистые и раневую поверхность. Является одним из видов обеззараживания. Дезинфекция полностью может их и не уничтожить, но уменьшает количество микроорганизмов до приемлемого уровня. Химическая (использование дез. средств например, формальдегид или гипохлорит натрия, растворы органических веществ, обладающих дезинфицирующими свойствами: хлоргексидин, четвертичные аммонийные соединения (ЧА-Сы), надуксусная кислота, полигуанидины (ПГМГ-ГХ).), физическая (ультрафиолет), биологическая (бактериофаги). Различают профилактическую, текущую и заключительную дезинфекцию)

## 59. Антибиотики. Классификация. Механизм действия антибиотиков. Методы определения чувствительности к антибиотикам. Формирование резистентности к антибиотикам у бактерий.

(Антибиотики — химиотерапевтические вещества, продуцируемые микроорганизмами, животными клетками, растениями, а также их производные и синтетические продукты, которые обладают избирательной способностью угнетать и задерживать рост микроорганизмов, а также подавлять развитие злокачественных новообразований. В основу главной классификации антибиотиков положено их химическое строение. Наиболее важными классами синтетических антибиотиков являются хинолоны и фторхинолоны (например, ципрофлоксацин), сульфаниламиды (сульфадиметоксин), имидазолы (метронидазол), нитрофураны (фурадонин, фурагин). По спектру действия антибиотики делят на пять групп в зависимости от того, на какие микроорганизмы они оказывают воздействие. Кроме того, существуют противоопухолевые антибиотики, продуцентами которых также являются актиномицеты. Каждая из этих групп включает две подгруппы: антибиотик широкого и узкого спектра действия. Антибактериальные антибиотики составляют самую многочисленную группу препаратов. Преобладают в ней антибиотики широкого спектра действия, оказывающие влияние на представителей всех трех отделов бактерий. К антибиотикам широкого спектра действия относятся аминогликозиды, тетрациклины и др. Антибиотики узкого спектра действия эффективны в отношении небольшого круга бактерий, например полимиксины действуют на грациликотные, ванкомицин влияет на грамположительные бактерии. В отдельные группы выделяют противотуберкулезные, противолепрозные, противосифилитические препараты. Противогрибковые антибиотики включают значительно меньшее число препаратов. Антипротозойные и противовирусные антибиотики насчитывают небольшое число препаратов. Противоопухолевые антибиотики представлены препаратами, обладающими цитотоксическим действием.

В зависимости от механизма действия различают пять групп антибиотиков:

1. антибиотики, нарушающие синтез клеточной стенки.
2. антибиотики, нарушающие молекулярную организацию и синтез клеточных мембран.
3. антибиотики, нарушающие синтез белка;
4. антибиотики — ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот.
5. антибиотики, подавляющие синтез пуринов и аминокислот.

Основными продуцентами природных антибиотиков являются микроорганизмы, которые, находясь в своей естественной среде (в основном, в почве), синтезируют антибиотики в качестве средства выживания в борьбе за существование. Антибиотикорезистентность — это устойчивость микробов к антимикробным химиопрепаратам. Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме. Резистентность может быть природной и приобретенной. Приобретение резистентности — это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганиз-



мов к условиям внешней среды. Проблема формирования и распространения лекарственной резистентности микробов особенно значима для внутрибольничных инфекций, вызываемых так называемыми «госпитальными штаммами», у которых, как правило, наблюдается множественная устойчивость к антибиотикам (так называемая полирезистентность). Генетические основы приобретенной резистентности. Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности (r-генами) и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях).

#### 60. Генетика бактерий: генетический аппарат, изменчивость.

(Генетический аппарат бактерий представлен хромосомными (нуклеоид) и внехромосомными (плазмиды, инсерционные последовательности, транспозоны) структурами. Структурные гены несут информацию о синтезируемых ферментах или структурных белках. Регуляторные гены регулируют транскрипцию структурных генов. Хромосома состоит из особых функциональных единиц — оперонов. Оперон — совокупность промотора, оператора и структурных генов — является функциональной генетической единицей, регулирующей экспрессию одного или группы генов. Изменчивость бактерий — способность бактерий приобретать новые признаки, закреплять их в потомстве и сохранять. Изменчивость — один из главных факторов эволюции. Она служит источником для отбора форм, наиболее приспособленных к условиям существования. Изменчивость может быть генотипической и фенотипической. Фенотипическая изменчивость — модификация — не затрагивает генотип, но затрагивает большинство особей популяции. Модификации не передаются по наследству и с течением времени затухают, т. е. бактерии возвращаются к исходному фенотипу через большее или меньшее число поколений (длительные или кратковременные модификации соответственно).

#### 61. Трансдукция

(Передача бактериальной ДНК посредством бактериофага. В процессе репликации фага внутри бактерий фрагмент бактериальной ДНК проникает в фаговую частицу и переносится вместе с ней в бактерию-реципиент. При этом фаговые частицы как правило дефектны, они теряют способность к репродукции. Так как трансдуцируются лишь небольшие фрагменты ДНК, вероятность рекомбинации, затрагивающей какой-то определенный признак, очень мала. Существуют три типа трансдукции: неспецифическая (общая); специфическая; abortивная).

#### 62. Конъюгация

(Обмен генетической информацией у бактерий путем передачи ее от донора к реципиенту при их прямом контакте. Необходимым условием конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной плазмиды. Трансмиссивные плазмиды кодируют половые пили, образующие конъюгационный мостик между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которому плазмидная ДНК передается из клетки-донора в клетку-реципиент. В результате такого переноса клетка-реципиент получает донорские свойства).

#### 63. Трансформация

(Перенос генетического материала, заключающийся в том, что бактерия-реципиент захватывает (поглощает) из внешней среды фрагменты чужеродной ДНК. Может быть спонтанной и индуцированной. Спонтанная трансформация происходит в естественных условиях и проявляется в возникновении рекомбинантов при смешивании генетически различающихся клеток. Она протекает за счет ДНК, выделяющейся клетками в окружающую среду вследствие их лизиса или в результате



активного выделения ДНК жизнеспособными клетками-донорами. Индуцированная (искусственно получаемая) трансформация происходит при добавлении к культуре бактерий очищенной ДНК, полученной из культур тех бактерий, генетические признаки которых стремятся передать исследуемой культуре. Перенос экстрагированной ДНК является основным методом генной инженерии, используемым при конструировании рекомбинантных штаммов с заданным геномом).

#### 64. Строение бактериофагов

(Для обозначения вируса, вызывающего лизис бактерий, д'Эррель предложил ныне общепризнанный термин бактериофаг. Широко используется и редуцированный вариант этого термина – фаг. Фаги делят на крупные и мелкие; кроме того, их различают по форме белкового чехла — капсида. К числу крупных фагов относятся наиболее детально изученные вирулентные колифаги (производное от *E. coli* + фаг) группы Т, подразделяющиеся в свою очередь на четные и нечетные: Т-1, Т-2, Т-3, Т-4, Т-5, Т-6, Т-7, а также умеренные кишечные фаги  $\lambda$ , Р-1, Р-2 и Р-22. К категории мелких фагов относятся РНК-содержащие фаги f-2, MS-2, М-12, Д Н К-со держащий фаг ФХ-174 и др. Нарисовать строение фагов).

#### 65. Вирулентные и умеренные фаги.

(Различают фаги инфекционные, т. е. способные вызвать разные формы фаговой инфекции, и неинфекционные (вегетативные), или незрелые, фаги, находящиеся еще в стадии размножения. В свою очередь инфекционные фаги разделяют на покоящиеся (находящиеся вне клетки), вирулентные — способные вызвать продуктивную форму инфекции, и умеренные фаги — способные вызывать не только продуктивную, но и редуцирующую фаговую инфекцию).

#### 66. Этапы размножения фагов.

(1)Адсорбция фагов на клеточной поверхности бактерий при помощи специфических рецепторов (белков-лоцманов), которые располагаются на кончике нити, шипа или хвостика. В свою очередь, на клеточной стенке бактерии располагаются ее фагоспецифические рецепторы, распознаваемые фагом.

2)Проникновение фагового генома через клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану внутрь клетки и освобождение его от оболочки (раздевание фага).

3)Установление фагового генома с помощью белка-лоцмана для реализации содержащейся в геноме информации:

4)Репликация фаговой геномной ДНК или РНК.

5)Сборка вновь синтезированных вирионов — заключение геномной НК в белковую оболочку, морфогенез фагов.

б) Выход вновь синтезированных фагов из клетки:

а) путем отпочковывания;

б) путем лизиса клетки изнутри. Он осуществляется свободным лизоцимом и вызывает гибель клетки.

#### 67. Практическое использование бактериофагов

Сферы практического применения: В медицине (профилактика и лечение бактериальных заболеваний; лечение гнойно-воспалительных заболеваний слизистых глаз, полости рта; профилактика гнойно-воспалительных осложнений при ожогах, ранениях, операционных вмешательствах). В генной инженерии (с помощью фагов можно конструировать направленные изменения в геноме хозяйской ДНК), в пищевой промышленности (в производстве продуктов питания из мяса, мяса птицы, сыров, растительной продукции, и пр.), в сельском хозяйстве (распыление фагопрепаратов



для защиты растений и урожая от гниения и бактериальных заболеваний). Применение фагопрепаратов для защиты скота и птицы от инфекций и бактериальных заболеваний.

#### 68. Понятия инфекции и инфекционного заболевания

(Инфекция — сумма биологических реакций, которыми макроорганизм отвечает на внедрение микробного (инфекционного) агента, вызывающего нарушение постоянства внутренней среды (гомеостаза). Аналогичные процессы, вызванные простейшими, называются инвазии. Инфекционная болезнь (заболевание) - патогенетические и клинические проявления взаимодействия между микроорганизмами и их продуктами, с одной стороны, и клетками, тканями и органами человека — с другой).

#### 69. Особенности инфекционных болезней

(Их этиологическим фактором является микробный агент; они передаются от больного здоровому; оставляют после себя ту или иную степень невосприимчивости; характеризуются цикличностью течения; имеют ряд общих синдромов).

#### 70. Периоды инфекционных заболеваний

(Инкубационный период — период от момента проникновения инфекционного агента в организм человека до появления первых предвестников заболевания. Возбудитель в этот период обычно не выделяется в окружающую среду, и больной не представляет эпидемиологической опасности для окружающих. Продромальный период — проявление первых неспецифических симптомов заболевания, характерных для общей интоксикации макроорганизма продуктами жизнедеятельности микроорганизмов и возможным действием бактериальных эндотоксинов. Возбудитель также не выделяется в окружающую среду (хотя при кори или коклюше больной в этот период уже заразен для окружающих. период разгара заболевания — проявление специфических симптомов заболевания. При наличии в этом периоде характерного симптомокомплекса клиницисты называют такое проявление заболевания манифестной инфекцией. А в тех случаях, когда заболевание в этот период протекает без выраженных симптомов, — бессимптомной инфекцией. Период исходов. В этот период возможны: *рецидив заболевания* — возврат клинических проявлений болезни без повторного заражения за счет оставшихся в организме возбудителей; *суперинфекция* — инфицирование макроорганизма тем же возбудителем до выздоровления. Если это происходит после выздоровления, то будет называться *реинфекцией*, так как возникает в результате нового заражения тем же возбудителем; *бактерионосительство* — носительство возбудителя какого-либо инфекционного заболевания без клинических проявлений; *полное выздоровление (реконвалесценция)* — в этот период возбудители также выделяются из организма человека в больших количествах, причем пути выделения зависят от локализации инфекционного процесса; *летальный исход*).

#### 71. Инфекционный процесс

(Инфекционный процесс — это ответная реакция организма на проникновение и циркуляцию в нем микробного агента).

#### 72. Факторы, необходимые для возникновения и развития инфекции

(Микроорганизм-возбудитель; восприимчивый макроорганизм; внешняя среда, в которой они взаимодействуют).

#### 73. Пути передачи инфекций



(Воздушно-капельный — характерен для ветряной оспы, туберкулеза, коклюша, гриппа; водный — характерный для холеры; алиментарный — характерный для дизентерии; трансмиссивный путь — связан с передачей возбудителя через укусы кровососущих насекомых (клещевой энцефалит, сыпной тиф); контактно-бытовой, который делится на: прямой контакт — от источника к хозяину (например, заболевания, передающиеся половым путем); косвенный контакт - через промежуточный объект — это могут быть руки (при раневой инфекции, кишечных инфекциях) или различные предметы, в том числе медицинского назначения (при гнойно-воспалительных заболеваниях и парентеральных гепатитах).

#### 74. Инфицирующая доза

(Наименьшее количество патогена, которое может вызвать развитие инфекции у организма, чувствительного к данному патогену. При попадании в организм меньшего количества патогена, чем ИД — заболевание может не возникнуть вообще, либо будет протекать в легкой форме. При попадании патогена в количестве, большем, чем ИД — вероятность заражения резко возрастает и протекание болезни обычно более тяжелое. Для измерения обычно используется «50%-я инфицирующая доза» (ИД 50) — то есть инфицируется 50 % экспериментальных особей. При этом обычно указывается способ введения (заражения). Например «воздушно-капельный» для вирусов гриппа и ОРВИ).

#### 75. Входные ворота инфекции

(Входные ворота — место, где возбудитель инфекции проникает в организм (кожные покровы, слизистые оболочки, кровь и др.). Во входных воротах обычно находят морфологические изменения, специфичные для определённого возбудителя и характерные для соответствующего инфекционного заболевания (развитие воспаления, нередко — очага некроза). Первичный аффект — первичная локализация возбудителя и воспалительные изменения вокруг него).

#### 76. Классификации инфекций

(По биологической природе возбудителя все инфекционные заболевания делятся на: бактериальные; вирусные; грибковые; протозойные; прионные. По числу возбудителей: моноинфекции; смешанные (ассоциированные) — микст-инфекции. По длительности течения: острые; хронические. По происхождению возбудителя: *экзогенные* — инфекции, возбудителями которых являются микроорганизмы, поступающие из окружающей среды с пищей, водой, воздухом, почвой, выделениями больного человека; *эндогенные* — возбудителями являются микроорганизмы — представители собственной нормальной микрофлоры человека (часто возникают на фоне иммунодефицитного состояния человека). В зависимости от источника, т. е. резервуара возбудителя: *сапронозные инфекции* — заболевания, основным местом обитания и размножения возбудителей которых являются объекты окружающей среды; *антропонозные инфекции* — заболевания, при которых единственный источник возбудителя — человек; *зоонозные инфекции* — заболевания, при которых единственный источник возбудителя — животные; *зооантропонозные инфекции* — заболевания, при которых источником являются животное и больной человек. По распространенности: *эндемические заболевания* — регистрируются на строго определенных территориях; *эпидемические заболевания* — распространенные на различных территориях.

#### 77. Патогенность и вирулентность бактерий, факторы патогенности бактерий

(По способности вызывать инфекцию микроорганизмы делят на 3 группы: не патогенные (сапрофиты) — микроорганизмы, которые неспособны вызывать инфекцию; патогенные микроорганизмы — всегда вызывают инфекцию; условно -патогенные микроорганизмы — способны вызывать



инфекцию, но только при определенных условиях, и в первую очередь при снижении антимикробной резистентности макроорганизма. Патогенность — это стойкий видовой признак, т. е. признак, присущий всем бактериям данного вида. Вирулентность — степень способности данного инфекционного агента (штамма микроорганизма или вируса) вызывать заболевание или гибель организма. Вирулентность является мерой патогенности).

#### 78. Антигены бактерий,

(Антиген – это биополимер органической природы, генетически чужеродный для макроорганизма, который при попадании в последний распознаётся его иммунной системой и вызывает иммунные реакции, направленные на его устранение. Антигены обладают рядом характерных свойств: антигенностью, специфичностью и иммуногенностью. Чужеродность является обязательным условием для реализации антигенности. Иммуногенность — потенциальная способность антигена вызывать по отношению к себе в макроорганизме специфическую защитную реакцию. Степень иммуногенности зависит от ряда факторов, которые можно объединить в три группы: 1. Молекулярные особенности антигена; 2. Клиренс антигена в организме; 3. Реактивность макроорганизма.

Специфичностью называют способность антигена индуцировать иммунный ответ к строго определенному эпитопу. Это свойство обусловлено особенностями формирования иммунного ответа — необходима комплементарность рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток к конкретной антигенной детерминанте. Поэтому специфичность антигена во многом определяется свойствами составляющих его эпитопов. Антигены бактериальной клетки. В структуре бактериальной клетки различают жгутиковые, соматические, капсульные и некоторые другие антигены. Жгутиковые, или Н-антигены, локализуются в локомоторном аппарате бактерий — их жгутики. Они представляют собой эпитопы сократительного белка флагеллина. При нагревании флагеллин денатурирует, и Н-антиген теряет свою специфичность. Фенол не действует на этот антиген. Соматический, или О-антиген, связан с клеточной стенкой бактерий. Его основу составляют ЛПС. О-антиген проявляет термостабильные свойства — он не разрушается при длительном кипячении. Однако соматический антиген подвержен действию альдегидов (например, формалина) и спиртов, которые нарушают его структуру. Капсульные, или К-антигены, располагаются на поверхности клеточной стенки. Встречаются у бактерий, образующих капсулу. Как правило, К-антигены состоят из кислых полисахаридов (уроновые кислоты). В то же время у бациллы сибирской язвы этот антиген построен из полипептидных цепей. По чувствительности к нагреванию различают три типа К-антигена: А, В, и L. Наибольшая термостабильность характерна для типа А, он не денатурирует даже при длительном кипячении. Тип В выдерживает непродолжительное нагревание (около 1 часа) до 60 °С. Тип L быстро разрушается при этой температуре. Поэтому частичное удаление К-антигена возможно путем длительного кипячения бактериальной культуры.

На поверхности возбудителя брюшного тифа и других энтеробактерий, которые обладают высокой вирулентностью, можно обнаружить особый вариант капсульного антигена. Он получил название антигена вирулентности, или Vi-антигена. Обнаружение этого антигена или специфичных к нему антител имеет большое диагностическое значение. Антигенными свойствами обладают также бактериальные белковые токсины, ферменты и некоторые другие белки, которые секретируются бактериями в окружающую среду (например, туберкулин).

#### 79. Антитела (классы, строение, функции)

Иммуноглобулины по структуре, антигенным и иммунобиологическим свойствам разделяются на пять классов: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD.

Иммуноглобулин класса G. Изотип G составляет основную массу Ig сыворотки крови. IgG — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (может одновременно связать 2 молекулы антигена,



следовательно, его валентность равна 2), молекулярную массу около 160 кДа и константу седиментации 7S. Легко проходит через плацентарный барьер и обеспечивает гуморальный иммунитет новорожденного в первые 3—4 месяца жизни. Способен также выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко путем диффузии. IgG обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Иммуноглобулин класса М. Наиболее крупная молекула из всех Ig. Это пентамер, который имеет 10 антигенсвязывающих центров, т. е. его валентность равна 10. Молекулярная масса его около 900 кДа, константа седиментации 19S. Различают подтипы М1 и М2. Тяжелые цепи молекулы IgM в отличие от других изотипов построены из 5 доменов. На его долю приходится около 5—10 % всех сывороточных Ig. IgM филогенетически — наиболее древний иммуноглобулин. Синтезируется предшественниками и зрелыми В-лимфоцитами. Обладает высокой авидностью, наиболее эффективный активатор комплемента по классическому пути. Участвует в формировании сывороточного и секреторного гуморального иммунитета. Являясь полимерной молекулой, содержащей J-цепь, может образовывать секреторную форму и выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко. Большая часть нормальных антител и изоагглютининов относится к IgM. Не проходит через плаценту. IgM обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Иммуноглобулин класса А. Существует в сывороточной и секреторной формах. Около 60 % всех IgA содержится в секретах слизистых. Сывороточный IgA: На его долю приходится около 10—15% всех сывороточных Ig. В сыворотке крови здорового взрослого человека содержится около 2,5 г/л IgA. IgA — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра, молекулярную массу около 170 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы А1 и А2. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе. Обладает высокой аффинностью. Может быть неполным антителом. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. IgA обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Секреторный IgA: В отличие от сывороточного, секреторный sIgA существует в полимерной форме в виде ди- или тримера (4- или 6-валентный) и содержит J- и S-пептиды. Молекулярная масса 350 кДа и выше, константа седиментации 13S и выше.

Секреторная форма IgA — основной фактор специфического гуморального местного иммунитета слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и респираторного тракта. Благодаря S-цепи он устойчив к действию протеаз. sIgA не активирует комплемент, но эффективно связывается с антигенами и нейтрализует их. Он препятствует адгезии микробов на эпителиальных клетках и генерализации инфекции в пределах слизистых.

Иммуноглобулин класса Е. Называют также реагином. Содержание в сыворотке крови крайне невысоко — примерно 0,00025 г/л. Обнаружение требует применения специальных высокочувствительных методов диагностики. Молекулярная масса — около 190 кДа, константа седиментации — примерно 8S, мономер. На его долю приходится около 0,002 % всех циркулирующих Ig. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками преимущественно в лимфоидной ткани бронхолегочного дерева и ЖКТ. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Обладает выраженной цитотоксичностью — тропностью к тучным клеткам и базофилам. Участвует в развитии гиперчувствительности немедленного типа — реакция I типа.



Иммуноглобулин класса D. Сведений об Ig данного изотипа не так много. Практически полностью содержится в сыворотке крови в концентрации около 0,03 г/л (около 0,2 % от общего числа циркулирующих Ig). IgD имеет молекулярную массу 160 кДа и константу седиментации 7S, мономер. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Является рецептором предшественников В-лимфоцитов.

#### 80. Реакция агглютинации (РА), ее разновидности, применение в микробиологии

(Реакции агглютинации, например непрямой агглютинации и Кумбса основаны на взаимодействии *in vitro* корпускулярных антигенов с антителами и способности образовавшихся комплексов выпадать в осадок. В качестве корпускулярных антигенов используют бактериальные клетки или растворимые антигены, экстрагированные из микроорганизмов и сорбированные на корпускулах носителей: эритроцитах, частицах латекса и т.д. Антигенные детерминанты корпускулярных антигенов специфически взаимодействуют с гомологичными антителами (специфическая, невидимая фаза реакции), а затем комплексы антиген—антитело образуют крупные, видимые невооруженным глазом конгломераты, которые выпадают в осадок — агглютинат (неспецифическая, видимая фаза реакции) Разновидности: РА на стекле (для определения АГ), развернутая РА (в пробирках для определения титра АТ).

#### 81. Диагностические сыворотки

(В диагностике инфекционных болезней широко применяются иммунные реакции при идентификации возбудителя: при установлении родовой, видовой и типовой принадлежности микроба (вируса). Иммунные диагностические сыворотки получают из крови животных (в основном кроликов), иммунизированных соответствующими микробами или антигенами. Агглютинирующие сыворотки (адсорбированные и неадсорбированные). Преципитирующие сыворотки. Гемолитические сыворотки. Люминисцирующие сыворотки.)

#### 82. Реакция преципитации, ее разновидности, применение в микробиологии. Отличие от реакции агглютинации

(Реакция преципитации (РП) - это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом. Он образуется при смешивании антигенов и антител в эквивалентных количествах; избыток одного из них снижает уровень образования иммунного комплекса. РП ставят в пробирках (реакция кольцепреципитации), в гелях, питательных средах и др. Широкое распространение получили разновидности РП в полужидком геле агара или агарозы: двойная иммунодиффузия по Оухтерлони, радиальная иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез и др. Механизм. Проводится с прозрачными коллоидными растворимыми антигенами, экстрагированными из патологического материала, объектов внешней среды или чистых культур бактерий. В реакции используют прозрачные диагностические преципитирующие сыворотки с высокими титрами антител. За титр преципитирующей сыворотки принимают то наибольшее разведение антигена, которое при взаимодействии с иммунной сывороткой вызывает образование видимого преципитата — помутнение. Реакция кольцепреципитации. *Радиальная иммунодиффузия по Манчини. Иммуноэлектрофорез.* Применение. Реакции преципитации используются для определения антигенов бактерий, тканей человека и животных; диагностики не-



которых инфекционных заболеваний; определения видовой принадлежности белка в судебной медицине; выявления примесей в мясных, рыбных, мучных изделиях в санитарной практике).

### 83. Реакция иммунофлюоресценции (РИФ), или люминесцентно-серологический метод. Компоненты реакции, варианты постановок

Иммунофлюоресцентный метод (РИФ, реакция иммунофлюоресценции, реакция Кунса) - метод выявления специфических АГ с помощью АТ, конъюгированных с флюорохромом. Обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Применяется для экспресс-диагностики инфекционных заболеваний (идентификация возбудителя в исследуемом материале), а также для определения АТ и поверхностных рецепторов и маркеров лейкоцитов (иммунофенотипирование) и др. клеток. Приготовление флюоресцирующих сывороток основано на способности некоторых флюорохро- мов (например, изотиоцианата флюоресцеина) вступать в химическую связь с сывороточными белками, не нарушая их иммунологической специфичности. Различают три разновидности метода: прямой, непрямой, с комплементом. Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками антителами, мечеными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета. Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антите- ла выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе).

### 84. Иммуноферментный анализ (ИФА), механизм реакции, её компоненты, варианты постановок

(Метод иммуноферментного анализа (ИФА) включает использование коммерческих реагентов — Аг или АТ, маркированных ферментами (например, пероксидазой или щелочной фосфатазой). После образования иммунного комплекса в систему вносят субстрат, расщепляемый ферментом, что приводит к окрашиванию среды в жёлто-коричневый (при использовании пероксидазы) или жёлто-зелёный цвет (при использовании фосфатазы). Различают прямой и непрямой варианты. Наибольшее распространение получил гетерогенный иммуноферментный анализ (ифа) на твёрдой фазе (твердофазный ИФА). Для этого коммерческие моноклональные АТ или Аг фиксируют на лунках пластиковых панелей, куда затем вносят исследуемый материал (содержащий Аг или АТ).

### 85. Принципиальные различия методов сероиндикации и сероидентификации

(Сероиндикация- обнаружение возбудителя непосредственно в исследуемом материале от больного при помощи иммунных диагностических сывороток. При постановке серологической реакции в направлении сероиндикации от больного берется исследуемый материал, в составе которого находится предполагаемый возбудитель (АГ). В лаборатории необходимо иметь иммунную диагностическую сыворотку, содержащую специфические известные АТ.



Сероидентификация- определение вида возбудителя при помощи иммунных диагностических сывороток в объеме метода выделения чистой культуры (микробиологического метода). При постановке реакции в данном направлении от больного выделяется чистая культура неизвестного возбудителя, которая используется в качестве АГ (исследуемого материала). В лаборатории необходимо иметь иммунную диагностическую сыворотку, которую получают путем гипериммунизации лабораторных животных (чаще всего кроликов) убитой микробной клеткой известного вида. То есть, иммунная диагностическая сыворотка содержит в себе известные АТ, которые способны вступить в специфическую связь со строго определенным АГ. В зависимости от того, чем представлен видовой АГ (целая микробная клетка, гаптен, часть клетки, экзотоксин, вирус) используются различные серологические реакции.).

#### 86. Серодиагностика, суть методов, компоненты реакций

(Серодиагностика- определение специфических АТ в сыворотке больного при помощи диагностикума (определение напряженности гуморального иммунного ответа). При постановке серологической реакции в направлении серодиагностики от больного в качестве исследуемого материала берется сыворотка крови (АТ). В лаборатории должен быть диагностикум. Диагностикум- это стандартная взвесь убитой микробной клетки известного вида (АГ). Методы: развернутая РА, ИФА, РПГА, РСК).

87. Варианты постановок реакций для обнаружения антител: РА, РПГА, РСК, ИФА (Исследуемый материал для всех методов – сыворотка крови обследуемого. Для РА – диагностикум стандартная взвесь убитой микробной клетки известного вида (АГ), для РПГА – АГ адсорбированные на поверхности эритроцитов (эритроцитарный диагностикум), для РСК – комплимент + диагностикум, для ИФА – диагностикум+ антиглобулиновая сыворотка, меченая ферментом.)

#### 88. Диагностикумы, их разновидности

(Для постановки серологических реакций применяются диагностикумы - препараты, содержащие взвесь обезвреженных микроорганизмов или определенные антигены. В серологических реакциях (реакции агглютинации, реакции пассивной гемагглютинации, реакции связывания комплемента, реакции торможения гемагглютинации) для выявления специфических антител применяются: бактериальные, эритроцитарные и вирусные диагностикумы.)

#### 89. Бактериологический метод. Первый этап

(Цель бактериологического метода заключается в выделении чистой культуры возбудителя заболевания из исследуемого материала, накопление чистой культуры и идентификация данной культуры по набору свойств: морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, антигенных, по наличию факторов патогенности, токсигенности и определение его чувствительности к антимикробным препаратам и бактериофагам.

Бактериологический метод исследования включает:

1. посев исследуемого материала в питательные среды
2. выделение чистой культуры
3. идентификацию микроорганизмов (определение принадлежности к виду).

I этап (работа с нативным материалом) Цель: получение изолированных колоний. 1. Предварительная микроскопия дает ориентировочное представление о микрофлоре 2. Подготовка материала к исследованию 3. Посев на плотные питательные среды для получения изолированных колоний 4. Инкубация при оптимальной температуре, чаще всего 37°C, в течение 18-24 часов



#### 90. Бактериологический метод. Второй этап

(Цель: получение чистой культуры 1. Макроскопическое изучение колоний в проходящем и отраженном свете (характеристика величины, формы, цвета, прозрачности, консистенции, структуры, контура, поверхности колоний). 2. Микроскопическое изучение изолированных колоний 3. Постановка пробы на аэротолерантность (для подтверждения присутствия в исследуемом материале строгих анаэробов). 4. Посев колоний, характерных для определенного вида, на среды накопления чистой культуры или элективные среды и инкубация в оптимальных условиях).

#### 91. Понятие «чистая культура», способы выделения чистой культуры

(Чистой культурой называют такую культуру, которая содержит микроорганизмы одного вида. Выделение чистых культур бактерий – обязательный этап бактериологического исследования в лабораторной диагностике инфекционных болезней, в изучении микробной загрязненности различных объектов окружающей среды, и, в целом, при любой работе с микроорганизмами. Для выделения чистых культур микроорганизмов используют методы:

1. Метод Пастера– последовательное разведение исследуемого материала в жидкой питательной среде до концентрации одной клетки в объеме.
2. Метод Коха– последовательное разведение исследуемого материала в расплавленном агаре, с последующим разливом в чашки Петри, где агар застывает. Высевы делают, как правило, из трех-четырех последних разведений, где бактерий становится мало и, в дальнейшем, при росте на чашках Петри появляются изолированные колонии, образующиеся из одной исходной материн-ской клетки. Из изолированных колоний в глубине агара получают чистую культуру бактерий пересевом на свежие среды.
3. Метод Шукевича– применяется для получения чистой культуры протей и других микроорганизмов обладающих «ползущим» ростом. Посев исследуемого материала производят в конденсационную воду у основания скошенного агара. Подвижные микробы (протей) способны подниматься вверх по скошенному агару, неподвижные формы остаются расти внизу на месте посева. Пересевая верхние края культуры можно получить чистую культуру.
4. Метод Дригальского–исследуемый материал разводят в пробирке стерильным физиологическим раствором или бульоном. Одну каплю материала вносят в первую чашку и стерильным стеклянным шпателем распределяют по поверхности среды. Затем этим же шпателем (не прожигая его в пламени горелки) делают такой же посев во второй и третьей чашках. С каждым посевом бактерий на шпателе остается все меньше и меньше и, при посеве на третью чашку, бактерии будут распределяться по поверхности питательной среды отдельно друг от друга.
5. Метод Вейнберга.
6. Метод Хангейта.
7. Выделение отдельных клеток с помощью микроманипулятора. Микроманипулятор – прибор, позволяющий с помощью специальной микропипетки или микропетли извлекать одну клетку из суспензии. Эту операцию контролируют под микроскопом).

#### 92. Культуральные свойства бактерий

(К культуральным или макроморфологическим свойствам относятся характерные особенности роста микроорганизмов на плотных и жидких питательных средах. На поверхности плотных питательных сред в зависимости от посева микроорганизмы могут расти в виде колоний, штриха или сплошного газона. Колонией называют изолированное скопление клеток одного вида, выросших



из одной клетки (клон клеток). В зависимости от того, где растет микроорганизм (на поверхности плотной питательной среды, в толще ее), различают поверхностные, глубинные и донные колонии. При описании колоний учитывают следующие признаки:

1. форму колонии – округлая, амебовидная, ризоидная, неправильная и т.д.;
2. размер (диаметр) колонии – очень мелкие (точечные) (0,1-0,5 мм), мелкие (0,5-3 мм), средних размеров (3-5 мм) и крупные (более 5 мм в диаметре);
3. поверхность колонии – гладкая, шероховатая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами или радиально исчерченная;
4. профиль колонии – плоский, выпуклый, конусовидный, кратерообразный и т.д.;
5. прозрачность – тусклая, матовая, блестящая, прозрачная, мучнистая;
6. цвет колонии (пигмент) – бесцветная или пигментированная (белая, желтая, золотистая, красная, черная), особо отмечают выделение пигмента в среду с ее окрашиванием;
7. край колонии – ровный, волнистый, зубчатый, бахромчатый и т.д.;
8. структура колонии – однородная, мелко или крупнозернистая, струйчатая; край и структуру колонии определяют с помощью лупы или на малом увеличении микроскопа, поместив чашку Петри с посевом на столик микроскопа крышкой вниз;
9. консистенция колонии – определяют прикасаясь к поверхности петлей, колония может быть плотной, мягкой, растущей в агар, слизистой (тянется за петлей), хрупкой (легко ломается при соприкосновении с петлей).

### 93. Бактериологический метод. Третий этап.

III этап Цель: идентификация выделенной чистой культуры. Для идентификации выделенной культуры по комплексу биологических свойств изучается: морфология и тинкториальные свойства, культуральные свойства (характер роста на питательных средах), биохимические свойства (ферментативная активность микроорганизмов), серологические свойства (антигенные), вирулентные свойства (способность к продукции факторов патогенности: токсины, ферменты, факторы защиты и агрессии), патогенность для животных, фаголизательность (чувствительность к диагностическим бактериофагам), чувствительность к антибиотикам, другие индивидуальные свойства. Третий этап исследований. Идентификация выделенной культуры).

### 94. Методы идентификации чистой культуры бактерий

(Идентификация микробов – определение систематического положения выделенной из материала культуры до вида и варианта. Первым условием надежности идентификации является безусловная чистота культуры. Для идентификации микробов используют комплекс признаков: морфологические (форма, размеры, наличие жгутиков, капсулы, спор, взаимного расположения в мазке), тинкториальные (отношение к окраске по Граму или другим методам), химические (соотношение гуанина+цитозина в молекуле ДНК), культуральные (питательные потребности, условия культивирования, темп и характер роста на различных питательных средах), ферментативные (расщепление различных веществ с образованием промежуточных и конечных продуктов), серологические (антигенная структура, специфичность), биологические (вирулентность для животных, токсигенность, аллергенность, влияние антибиотиков и др.).

Для биохимической дифференциации изучают способность бактерий сбраживать углеводы с образованием промежуточных и конечных продуктов, способность разлагать белки и пептоны и изучают окислительно-восстановительные ферменты.

Для изучения сахаролитических ферментов выделенные культуры засевают в пробирки с полужидкими средами, содержащими лактозу, глюкозу и другие углеводы и многоатомные спирты. На полужидкие среды посев делают уколом в глубину среды. При посеве уколом пробирку со средой



держат под наклоном, вынимают пробку, обжигают край пробирки. Материал забирают стерильной петлей и прокалывают ею столбик питательной среды почти до дна. Для определения протеолитических ферментов выделенную культуру засевают на пептонную воду или МПБ.

#### 95. Бактериологический метод исследования. Заключительный этап.

IV этап По изученным свойствам делают заключение о выделенной культуре. Заключение по исследованию. Учитывают результаты идентификации и по совокупности полученных данных, опираясь на классификацию и характеристику типовых штаммов, описанных в руководстве (определитель Берджи, 1994-1996 гг.), определяют вид выделенных культур.

#### 96. Бактериологический метод изучения анаэробов

(Метод Вейнберга. Особые трудности возникают при выделении чистых культур облигатных анаэробов. Если контакт с молекулярным кислородом не вызывает сразу же гибели клеток, то посев производят по методу Дригальского, но после этого чашки сразу помещают в анаэрогат. Однако чаще пользуются методом разведения. Сущность его заключается в том, что разведения исследуемого материала проводят в расплавленной и охлажденной до 45-50 С агаризированной питательной среде. Делают 6-10 последовательных разведений, затем среду в пробирках быстро охлаждают и заливают поверхность слоем смеси парафина и вазелинового масла, чтобы помешать проникновению воздуха в толщу питательной среды. Иногда питательную среду после посева и перемешивания переносят в стерильные трубки Бурри или капиллярные пипетки Пастера, концы которых запаивают. При удачном разведении в пробирках, трубках Бурри, пипетках Пастера вырастают изолированные колонии анаэробов. Чтобы изолированные колонии хорошо были видны, используют осветленные питательные среды. Для извлечения изолированных колоний анаэробов, пробирку слегка нагревают, вращая ее над пламенем, при этом агар, прилегающий к стенкам, плавится и содержимое пробирки в виде агарового столбика выскользывает в стерильную чашку Петри. Столбик агара разрезают стерильным пинцетом и извлекают колонии петлей. Извлеченные колонии помещают в жидкую среду, благоприятную для развития выделяемых микроорганизмов (например, среду Китта-Тароцци). Агаризированную среду из трубки Бурри выдувают, пропуская газ через ватную пробку.

Метод Хангейта – когда хотят получить изолированные колонии бактерий с особенно высокой чувствительностью к кислороду (строгие аэробы) используют метод вращающихся пробирок Хангейта. Для этого расплавленную агаризированную среду засевают бактериями при постоянном токе через пробирку инертного газа, освобожденного от примеси кислорода. Затем пробирку закрывают резиновой пробкой и помещают горизонтально в зажим, вращающий пробирку, среда при этом равномерно распределяется по стенкам пробирки и застывает тонким слоем. Применение тонкого слоя в пробирке, заполненной газовой смесью, позволяет получить изолированные колонии, хорошо видимые невооруженным глазом).

#### 97. Природа и происхождение вирусов.

(Гипотеза 1. Вирусы – это потомки древних доклеточных форм жизни. Вирусы могли бы эволюционировать от комплексов молекул белка и нуклеиновой кислоты одновременно с появлением первых клеток на Земле или ранее. (Гипотеза первичности вирусов, гипотеза коэволюции). Гипотеза 2. Вирусы – это составные части клеток, куски ДНК или РНК, которым каким-то образом удалось стать автономными системами. (Гипотеза побега) Гипотеза 3. Вирусы – это деградировавшие по неизвестной причине патогенные бактерии. (Регрессивная гипотеза)

#### 98. Свойства вирусов.



(Содержат лишь один тип нуклеиновой кислоты – ДНК или РНК; не имеют собственных белоксинтезирующих и энергетических систем; не имеют клеточной организации; обладают уникальным разобщенным (дисъюнктивным) способом репродукции: синтез основных структурных компонентов вирусов (белков и НК) происходит в разное время и в разных местах пораженной клетки, т. е. разобщен во времени и пространстве; являются облигатными внутриклеточными паразитами; генетический аппарат вирусов может полностью или частично встраиваться в клеточный геном и в дальнейшем функционировать и воспроизводиться как его часть; фильтруемость — прохождение вирусов через бактериальные фильтры, что связано с малыми размерами вирусов (их размеры выражаются в нанометрах, т. е. они в тысячи раз меньше клеток).

### 99. Морфология вирионов

(Форма вирионов может быть различной: палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ), нитевидной (филовирусы), в виде сперматозоида (многие бактериофаги). Различают просто устроенные и сложно устроенные вирусы. Тип симметрии. Капсид или нуклеокапсид могут иметь спиральный, икосаэдрический (кубический) или сложный тип симметрии. Икосаэдрический тип симметрии обусловлен образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту (например, у вирусов гепатита А, герпеса, полиомиелита). Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида (например, у вируса гриппа).

### 100. Структура и химический состав вирионов

(Вирусы имеют уникальный геном, так как содержат либо ДНК, либо РНК. Поэтому различают ДНК-содержащие и РНК-содержащие вирусы. Они обычно гаплоидны, т.е. имеют один набор генов. Геном вирусов представлен различными видами нуклеиновых кислот: двунигчатными, однонигчатными, линейными, кольцевыми, фрагментированными. Среди РНК-содержащих вирусов различают вирусы с положительным (плюс-нить РНК) геномом. Плюс-нить РНК этих вирусов выполняет наследственную функцию и функцию информационной РНК (иРНК). Имеются также РНК-содержащие вирусы с отрицательным (минус-нить РНК) геномом. Минус-нить РНК этих вирусов выполняет только наследственную функцию. Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц — капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом, образуя нуклеокапсид. Сложные, или оболочечные, вирусы снаружи капсида окружены липопротеиновой оболочкой (суперкапсидом, или пеплосом).

### 101. Простые безоболочечные вирусы

(Простые, или безоболочечные, вирусы состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, называемой капсидом. Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц — капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом, образуя нуклеокапсид.)

### 102. Сложные (оболочечные) вирусы

(Сложные, или оболочечные, вирусы снаружи капсида окружены липопротеиновой оболочкой (суперкапсидом, или пеплосом). Эта оболочка является производной структурой от мембран вирусинфицированной клетки. На оболочке вируса расположены гликопротеиновые шипы, или шипики (пепломеры). Под оболочкой некоторых вирусов находится матриксный М-белок).

### 103. Классификация вирусов (по Балтимору и ICTV)



(По Балтимору основывается на механизме образования мРНК, вирусы делят на 7 «классов»:

I – вирусы, содержащие ds ДНК,

II – вирусы, содержащие ssДНК,

III – вирусы, содержащие dsРНК,

IV – вирусы, содержащие ssРНК (+),

V – вирусы, содержащие ssРНК (-),

VI – вирусы, содержащие ssРНК (+), геном реплицируется через стадию ДНК (РНК –ретровирусы)

VII – вирусы, содержащие dsДНК, геном реплицируется через стадию РНК (ДНК – ретровирусы).

В основе классификации ICTV лежит: тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), ее структура, количество нитей (одна или две), особенности воспроизводства вирусного генома; размер и морфология вирионов, количество капсомеров и тип симметрии; наличие суперкапсида; место размножения в клетке; антигенные свойства и др.)

#### 104. Значение вирусов в жизнедеятельности человека.

(Вирусные инфекции составляют преобладающую часть инфекционной патологии человека. Самыми распространенными среди них являются острые респираторные (ОРВИ) и другие вирусные инфекции, передаваемые воздушно-капельным путем, возбудители которых относятся к абсолютно различным семействам: РНК-содержащие вирусы: коронавирусы, вирус гриппа А, В, С, вирус эпидемического паротита, вирусы парагриппа, кори, риновирусы и др. Бактериофаги используют в медицине (профилактика и лечение бактериальных заболеваний; лечение гнойно-воспалительных заболеваний слизистых глаз, полости рта; профилактика гнойно-воспалительных осложнений при ожогах, ранениях, операционных вмешательствах), в генной инженерии (с помощью фагов можно конструировать направленные изменения в геноме хозяйской ДНК), в пищевой промышленности (в производстве продуктов питания из мяса, мяса птицы, сыров, растительной продукции, и пр.), в сельском хозяйстве (распыление фагопрепаратов для защиты растений и урожая от гниения и бактериальных заболеваний). Применение фагопрепаратов для защиты скота и птиц от инфекций и бактериальных заболеваний)

#### 105. Роль вирусов в экосистемах

(Вирусы контролируют численность живых организмов на планете. Основная экологическая роль вирусов заключается в участии в перераспределении потоков органического вещества. Они способствуют поддержанию огромного количества углерода и других биогенных элементов в растворенном состоянии, в котором они доступны автотрофному бактериопланктону. Поскольку численность вирусов напрямую зависит от количества хозяев, а бактерии составляют более 90 % биомассы в море, большая часть этих вирусов является бактериофагами. По оценкам, каждый день вирусы убивают около 20 % этой биомассы, т.е. они влияют на численность, видовой состав и разнообразие планктонных микроорганизмов, а также изменяют потоки вещества и энергии в микробных сообществах. Вирусы формируют «биологический интернет»: бактериофаги могут обмениваться с хозяевами практически любыми генами, при этом бактерии, приобретшие потенциально опасные для человека или животных гены, расширяют свою экологическую нишу. Примеры: островки патогенности, гены устойчивости к антибиотикам, гены фотосистемы II у цианофагов мигрируют между разными экотипами морских цианобактерий, обеспечивающих до 25% глобального фотосинтеза и, например, обеспечивают репарацию фотосинтетического аппарата на ярком свете. В геноме высших приматов существует ген, кодирующий белок синцитин, который был привнесён ретровирусом.



106. Генетика вирусов.

Вирусы имеют ДНК или РНК геном. Наследственные изменения свойств вирусов могут быть основаны на двух процессах:

1. мутации, то есть изменении последовательности нуклеотидов в определенной области генома вируса, что приводит к фенотипически выраженному изменению свойства; 2. рекомбинации, то есть обменом генетическим материалом между двумя вирусами, близкими, но различными по наследственным свойствам. Все вирусные мутации делятся на две группы: спонтанные; индуцированные (вызванные). По своей протяженности они делятся на точечные (вызываются замещением одного нуклеотида (для РНКсодержащих вирусов) и абберационные (изменения, затрагивающие значительную часть генома).

107. Структурная организация и стратегия вирусного генома.

(Под стратегией вирусного генома понимается способ репродукции, используемый вирусом. Реализация генетической информации идет по двум направлениям: во-первых, геном воспроизводит себя, то есть реплицируется; во-вторых, происходит синтез кодируемых геномом белков через процессы транскрипции/трансляции. Механизмы обоих направлений являются значимыми для таксономии. Так, вирусы с ds-ДНК могут реплицироваться по двум разным схемам: классической (ДНК-ДНК) для всех семейств, кроме *Herpadnaviridae*, по схеме  $\pm(\rightarrow)ДНК-(\rightarrow(+))РНК(\rightarrow)ДНК\pm$  (белок). У РНК-вирусов с негативным геномом (*Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae*) транскрипция мРНК осуществляется вирионной РНК-полимеразой с использованием в качестве матрицы геномной РНК.  $\rightarrow мРНК \rightarrow ДНК \rightarrow$  Синтез вирусспецифических белков, у РНК-вирусов так же происходит по-разному. У вирусов с позитивным геномом (*Picornaviridae*, *Flaviviridae*) геномная РНК может являться одновременно информационной (мРНК), которая и служит матрицей для синтеза одного белка-предшественника, далее протеолитически расщепляющегося на отдельные вирусные белки. У представителей *Coronaviridae* геномная РНК служит матрицей для синтеза РНК-полимеразы, которая в свою очередь синтезирует несколько мРНК разного размера, комплементарных геному. У *Retroviridae* синтез белка осуществляется по схеме РНК  $\rightarrow мРНК \rightarrow ДНК \rightarrow РНК$  белок. У РНК-вирусов с негативным геномом (*Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae*) транскрипция мРНК осуществляется вирионной РНК-полимеразой с использованием в качестве матрицы геномной РНК.)

108. Вирусы, содержащие двуцепочечную ДНК и не имеющие РНК-стадии

(Для репликации вирусы попадают в ядро, так как им требуется клеточная ДНК-полимераза. Также репликация ДНК этих вирусов сильно зависит от стадии клеточного цикла. В некоторых случаях вирус может вызывать деления клетки, что может приводить к раковому перерождению. Репликация двунитевых вирусных ДНК проходит обычным полуконсервативным механизмом: после расплетения нитей ДНК к ним комплементарно достраиваются новые нити. Примеры вирусов: *Herpesvirales*, *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Poxviridae*. У представителей ds ДНК вирусов семейства *Poxviridae* геномная ДНК реплицируется не в ядре).

109. Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу ДНК

(Одноцепочечную ДНК содержат некоторые бактериофаги, а также семейство *Inoviridae*, *Microviridae* и др.. Проникают в клетку с использованием клатрин – опосредованного эндоцитоза. Вирион выходит в цитоплазму через пермеабиллизацию эндосомальной мембраны и транспортируется к ядру с использованием микротубулярного транспорта. Репликация: 3'-конец ДНК имеет уникальную последовательность размером 125 нуклеотидов, образующую



двухнитевую Т-образную шпильчатую структуру. Она выполняет роль затравки для ДНК-полимеразы. ДНК-полимераза в результате репарационного синтеза комплементарной цепи воссоздает дуплекс, обе цепи которого на одном конце ковалентно соединены. При этом 3'-концевой сегмент родительского генома в качестве матрицы не используется. Вирусоспецифический фермент вносит разрыв в родительскую цепь на границе между реплицированным и нереплицированным участками последовательности. В результате этих реакций возникает дисперсная двухнитевая репликативная форма вирусной ДНК. На следующем этапе репликации происходит восстановление шпильчатых структур, формирование структуры "кроличьих ушей", которые образованы последовательностями родительской шпильки и синтезированной на предыдущем этапе ее комплементарной цепи со свободным 3'-гидроксильной группой, используемым для продолжения репликативного синтеза. Результатом этого синтеза является образование промежуточных репликативных форм. Вторая репликативная форма ДНК используется в качестве матрицы для дальнейшего синтеза вирусной ДНК, а вытесненная из дуплекса однонитевая молекула или вступает в репликационный цикл, или входит в состав дочерней вирусной частицы).

#### 110. Вирусы, содержащие двуцепочечную РНК

(Представители этого класса реплицируют геномную РНК в цитоплазме и используют полимеразы хозяина в меньшей степени, чем ДНК-вирусы. Класс III включает в себя два крупных семейства — *Reoviridae* и *Birnaviridae*. Репликация моноцистронная, геном сегментирован, каждый ген кодирует один белок. Механизм репродукции этих вирусов сходен с репродукцией минус однонитевых РНК вирусов.)

#### 111. Плюс-однонитевые РНК-вирусы

(У них геномная плюс-нить РНК выполняет функцию иРНК. Непосредственно на (+) геномной РНК вирусов IV класса может идти синтез белка на рибосомах клетки хозяина. Вирусы классифицируют на две группы, в зависимости от особенностей РНК: у вирусов с полицистронной мРНК трансляция приводит к образованию полипротеина, который затем разрезается на зрелые белки. С одной цепи РНК может синтезироваться несколько разных белков, что снижает длину генов. У вирусов со сложной трансляцией синтез белка идет со сдвигом рамки считывания, также используется протеолитический процессинг полипротеинов. Эти механизмы обеспечивают синтез разных белков с одной цепи РНК. Вирусы данного класса включают в таксоны: *Nidovirales*, *Picornavirales* (*Picornaviridae*), *Tymovirales*, *Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Virgaviridae*)

#### 112. Минус-однонитевые РНК-вирусы

(Представители данного класса входят в состав таксонов: *Bunyavirales*, *Mononegavirales*, *Arenaviridae*, *Ophioviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Deltavirus*. Это вирусы, содержащие несегментированный геном, на первом этапе репликации происходит транскрипция (-)РНК вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой в моноцистронную мРНК, и далее синтезируются дополнительные копии (+)РНК, служащие матрицами для синтеза геномных (-)РНК).

#### 113. Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу РНК и имеющие в своем жизненном цикле стадию синтеза ДНК на матрице РНК

(Наиболее хорошо изученным семейством данного класса вирусов, являются ретровирусы. Вирусы класса VI используют фермент обратную транскриптазу для превращения (+)РНК в ДНК. Вместо



использования РНК в качестве матрицы для синтеза белков, вирусы этого класса используют матрицу ДНК, которая встраивается в геном хозяина ферментом интегразой. Дальнейшая репликация происходит при помощи полимераз клетки хозяина. Наиболее хорошо изученным представителем данной группы вирусов является ВИЧ).

114. Вирусы, содержащие двуцепочечную ДНК и имеющие в своём жизненном цикле стадию синтеза ДНК на матрице РНК

(Небольшая группа вирусов, в состав которой входит вирус гепатита В, представитель семейства *Hepadnaviridae*, имеют двуцепочечную геномную ДНК, которая ковалентно замкнута в форме кольца и является матрицей для синтеза мРНК вируса, а также субгеномных РНК. Субгеномная РНК служит матрицей для синтеза ДНК-генома ферментом обратной транскриптазой вируса).

115. Изменчивость вирусов.

(Наследственные изменения свойств вирусов могут быть основаны на двух процессах: 1. мутации, то есть изменении последовательности нуклеотидов в определенной области генома вируса, что приводит к фенотипически выраженному изменению свойства; 2. рекомбинации, то есть обменом генетическим материалом между двумя вирусами, близкими, но различными по наследственным свойствам. Все вирусные мутации делятся на две группы: спонтанные; индуцированные (вызванные). По своей протяженности они делятся на точечные (вызываются замещением одного нуклеотида (для РНКсодержащих вирусов) и абберационные (изменения, затрагивающие значительную часть генома).

116. Репродукция вируса

(Стадии репродукции вирусов:

1. адсорбция вирионов на клетке;
2. проникновение вируса в клетку;
3. «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса);
4. синтез вирусных компонентов;
5. формирование вирусов;
6. выход вирионов из клетки)

117. Взаимодействие вируса с клеткой

(Продуктивный тип, при котором образуются новые вирионы, по-разному выходящие из клетки:

1. при ее лизисе, т. е. «взрывным» механизмом (безоболочечные вирусы);
2. путем «почкования» через мембраны клетки (оболочечные вирусы), в результате экзоцитоза;

Абортивный тип, характеризующийся прерыванием инфекционного процесса в клетке, поэтому новые вирионы не образуются;

Интегративный тип или вирогенез, заключающийся в интеграции, т.е. встраивании вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместном сосуществовании (совместная репликация).

118. Основные этапы патогенеза вирусных инфекций.

1. Проникновение в организм.

Основные входные ворота для возбудителей вирусных инфекций человека – дыхательные пути и ЖКТ, реже – кожные покровы.

2. Распространение возбудителя в организме может носить локальный или системный



характер.

3. В дальнейшем возможно несколько вариантов:

Полная элиминация вируса (абортивная инфекция); Размножение вирусов в фагоцитах с последующим выходом и развитием выраженной вторичной вирусемии, сопровождающейся проявлением характерных клинических признаков заболевания (например, энцефалит); Некоторые вирусы (например, вирус гепатита В) слабо поглощаются фагоцитами и могут циркулировать в крови в свободном состоянии.

119. Вирусемия

(Циркуляция вирусов в крови. Некоторые вирусы (например, вирус гепатита В) слабо поглощаются фагоцитами и могут циркулировать в крови в свободном состоянии.)

120. Локальные и системные поражения

(Локальные поражения типичны для возбудителей респираторных и кишечных инфекций, а также для некоторых кожных заболеваний. Системные поражения: из места проникновения вирусы попадают в кровоток, вызывая вирусемию, и постепенно фиксируются в чувствительных тканях.)

121. Цитопатическое действие вирусов (визуализация)

Цитопатическое действие вируса (ЦПД), имеет три основных типа:

- кругло- или мелкоклеточная дегенерация;

- образование многоядерных гигантских клеток (симпластов);

- развитие очагов клеточной пролиферации, состоящих из нескольких слоев клеток;

Включения выявляются в окрашенных по Романовскому-Гимза мазках из зараженных клеток. Они бывают эозинофильные и базофильные. По локализации в клетке различают: - цитоплазматические, - ядерные, - смешанные включения. Симпласты представлены гигантскими многоядерными клетками (например, клетки Цапка, выявляемые при герпетических поражениях), образующимися в результате модификации ЦПМ лизосомальными ферментами. Реже наблюдают образование синцитиев— больших конгломератов цитоплазмы, содержащих сотни и тысячи ядер связанных между собой клеток. Образование синцитиев обусловлено модификацией ЦПМ поверхностными гликопротеинами и характерно для парамиксовирусов).

122. Абортивная вирусная инфекция

(Абортивный тип — не завершается образованием новых вирионов, поскольку инфекционный процесс в клетке прерывается на одном из этапов. Полная элиминация вируса).

123. Факторы патогенности вирусов.

(Факторами патогенности вирусов являются: адгезины, нуклеиновые кислоты, белки и ферменты. Адгезины – это протеиновые, гликопротеиновые или гликолипопротеиновые структуры, расположенные на вирусном суперкапсиде или капсиде и выполняющие функцию рецепторов. Посредством адгезинов вирионы прикрепляются к чувствительным клеткам, имеющим гомологичный вирусному рецептору клеточный антирецептор. Клетка, не имеющая антирецепторов к адгезинам конкретного вируса, данным вирусом не инфицируется, что лежит в основе видового иммунитета. Аналогичная ситуация развивается при блокаде клеточных антирецепторов лекарственными веществами. Нуклеиновые кислоты – основной фактор патогенности вирусов. Вирусные РНК и ДНК инфекционны – обладают способностью проникать в клетки и обеспечивать репродукцию вирусов. Вирусные геномы содержат гены, продукты которых обеспечивают переключение рибосом клетки-хозяина на синтез вирусных белков, прежде всего, ферментов, участвующих в репликации вирус-



ной нуклеиновой кислоты. Блокада клеточного метаболизма сопровождается нарушением специфических функций клетки; развитием гипоксии и активации перекисного окисления липидов, которое ведет к дестабилизации клеточных мембран и к их разрушению. Вирусные РНК и ДНК являются индукторами продукции клеткой интерферона, молекулы которого фиксируются на клеточных цитоплазматических мембранах и являются активаторами натуральных киллеров, разрушающих инфицированные вирусами интерферонпродуцирующие клетки. Вирусные нуклеиновые кислоты при интеграции в ДНК клетки-хозяина способны вызывать либо мутации, ведущие к опухолевой трансформации клеток, либо персистенцию вирусов. Вирусные белки могут вызывать интоксикацию организма как непосредственно, так и за счет стимуляции гиперпродукции макрофагами интерлейкина-1 $\beta$  (эндогенного пирогена) и фактора некроза опухолей- $\beta$  (кахектина). Белки многих вирусов способны индуцировать клеточный апоптоз – программируемую гибель клетки. Встроенные в состав суперкапсидов в клеточные цитоплазматические мембраны, вирусные белки являются мишенью для Т-киллеров и антител, разрушающих вирусинфицированные клетки. Белки некоторых вирусов обладают канцерогенным и мутагенным действием. Вирусные белки обладают иммуносупрессивным действием.

Ферменты вирусов участвуют в проникновении в клетку и раздевании вирионов (нейраминидаза, протеазы), интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина).

124. Роль вирусов в возникновении иммунологических реакций и в канцерогенезе. (Согласно современным данным, этиологическими агентами около 15% опухолевых новообразований человека являются вирусы. К таким вирусам относятся: вирус Т-клеточного лейкоза/лимфомы (human T-leukemia/lymphoma virus), вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус папилломы человека (ВПЧ), вирусы гепатита В и С, вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) и другие. Важно отметить, что некоторые вирусы ассоциированы с опухолями только одной локализации, тогда как другие — с разными злокачественными новообразованиями, что, вероятно, обусловлено тропизмом вирусов к клеточным системам определенного типа.

Вирус Т-клеточного лейкоза/лимфомы (HTLV-1). HTLV-1 – это онкогенный вирус, способный вызывать Т-клеточный лейкоз/лимфому у взрослых, а также тропический спастический парапарез и ряд других неонкологических заболеваний.)

125. Значение вирусов для макроорганизма

(Вирусные инфекции составляют преобладающую часть инфекционной патологии человека. Вирусы обеспечивают иммунизацию макроорганизма. В геноме высших приматов существует ген, кодирующий белок синцитин, который был привнесён ретровирусом.)

126. Перечислить прямые методы исследования клинического материала на наличие вирусов

(Непосредственное исследование материала на наличие вирусного антигена или нуклеиновых кислот (электронная микроскопия; иммунная электронная микроскопия; реакция иммунофлюоресценции (прямая и непрямая); иммуноферментный анализ; радиоиммунный анализ; цитологические методы; молекулярные методы: молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот; полимеразная цепная реакция (ПЦР); иммунохроматографический анализ).

127. Суть электронной микроскопии

(Электронный микроскоп, прибор, который позволяет получать сильно увеличенное изображение объектов, используя для их освещения электроны. Электронный микроскоп (ЭМ) дает возможность видеть детали, слишком мелкие, чтобы их мог разрешить световой (оптический) микроскоп.



Просвечивающая ЭМ работает по схеме проходящих электронных лучей в отличие от светового металлографического микроскопа, в котором изображение формируется отраженными световыми лучами. Источник света в электронном микроскопе заменен источником электронов, вместо стеклянной оптики используются электромагнитные линзы (для преломления электронных лучей) Растровая ЭМ основана на зондировании поверхности изучаемого образца электронным зондом. Сущность метода состоит в том, что поверхность массивного образца облучается тонко сфокусированным (диаметром до 5-10 нм) пучком электронов - так называемым электронным зондом. Пучок электронов совершает возвратно-поступательное движение по линии или развертывается в растр - совокупность близко расположенных параллельных линий, вдоль которых пучок электронов обегает выбранный для исследования участок поверхности).

128. Прямая и непрямая реакция иммунофлюоресценции (РИФ) для обнаружения вирусов

Прямой метод РИФ основан на том, что антигены вирусов, обработанные иммунными сыворотками с антителами, мечеными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета. Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченой флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченой флюорохромами. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.

129. Иммуноферментный анализ (ИФА) для обнаружения вирусов (Иммуноферментный анализ. Антитела, меченые ферментами, связываются с антигеном (вирусом), и такой комплекс обнаруживается при добавлении субстрата для фермента. После образования иммунного комплекса в систему вносят субстрат, расщепляемый ферментом, что приводит к окрашиванию среды в желто-коричневый (при использовании пероксидазы) или желто-зеленый цвет (при использовании фосфатазы). Различают прямой и непрямой варианты.)

130. Радиоиммунный анализ (РИА) (Радиоиммунный анализ (РИА), также радиоиммунологический или изотопный иммунологический анализ, (англ. Radioimmunoassay, RIA) — метод количественного определения вирусов в биологических жидкостях, основанный на конкурентном связывании искомого стабильных и аналогичных им меченных радионуклидом веществ со специфическими связывающими системами, с последующей детекцией на специальных счетчиках — радиоспектрометрах.)

131. Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот (Метод основан на гибридизации комплементарных нитей ДНК или РНК с образованием двуниевых структур и выявлении их с помощью метки. Для этой цели используются специальные ДНК-или РНК-зонды, меченные изотопом (<sup>32</sup>P) или биотином, обнаруживающие комплементарные нити ДНК или РНК).



132. Полимеразная цепная реакция (ПЦР), суть, варианты ПЦР  
(ПЦР Основана на принципе естественной репликации ДНК. Суть метода заключается в многократном повторении циклов синтеза (амплификации) вирус-специфической последовательности ДНК с помощью термостабильной Taq ДНК-полимеразы и двухспецифических затравок – так называемых праймеров. Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат в качестве матрицы для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации, что позволяет за 25–35 циклов наработать достаточное число копий выбранного участка ДНК для ее определения различными методами).

133. Иммунохроматографический анализ для обнаружения вирусов  
(Иммунохроматографический анализ — это метод определения наличия определенных концентраций антигенов вируса в биологических материалах (моча, цельная кровь, сыворотка или плазма крови, слюна, кал и т. д.).

134. Цитологические методы исследования вирусов  
(Выделение (изоляция) вирусов из клинического материала и идентификация— один из самых старых и трудоемких методов диагностики. Однако и сегодня выделение вируса с последующей идентификацией с помощью одного из современных методов является наиболее достоверным методом диагностики – так называемый "золотой стандарт").

135. Выявление телец Бабеша—Негри в цитоплазме клеток  
(На сегодняшний день в ветеринарии применяется единственный информативный и достаточно точный метод диагностики бешенства у животных. Это посмертное исследование срезов аммоновых рогов головного мозга и обнаружение в них специфических включений - телец Бабеша-Негри. Тельца Бабеша-Негри также присутствуют в цитоплазме нейронов, гиппокампе, клетках Пуркиньи коры мозжечка, стволе мозга, гипоталамусе и спинномозговых ганглиях. Данные тельца присутствуют в головном мозге только при бешенстве, наличие их при других заболеваниях, в том числе и при заболеваниях центральной нервной системы, не зафиксировано.)

136. Культивирование вирусов в роллерных культурах и в суспензированных культурах  
(Тканевые культуры или клеточные культуры – клетки, выращенные вне организма на искусственных питательных средах. Для их приготовления используют чаще всего эмбриональные и опухолевые ткани. Метод тканевых культур разработан Дж. Эндерсом в 50-е годы. Большинство вирусов способно размножаться в культурах клеток. Для каждого вируса можно подобрать наиболее чувствительную культуру клеток. Бывают культуры растущих тканей и переживающих тканей (утративших способность к росту).

Существуют три типа растущих тканевых культур:

- а) однослойные тканевые культуры – клетки прикрепляются и растут в виде сплошного монослоя по поверхности стекла лабораторной посуды;
  - б) культуры суспензированных клеток – клетки растут и размножаются во взвешенном состоянии;
  - в) органы культуры - кусочки органов животных и человека, выращиваемые вне организма.
- Однослойные культуры – основные культуры. Различают: а) первичные – клетки этой культуры делятся один раз, поэтому каждый раз необходимо вновь получать культуру ткани; чаще всего используют эмбриональные ткани и опухолевые ткани взрослого человека;
- б) полуперевиваемые – клетки делятся до 50 раз, сохраняя диплоидный набор хромосом; их можно перевивать несколько раз; используют диплоидные клетки человека (фибробласты человеческого эмбриона, диплоидные клетки легких человека);



в) перевиваемые – клетки культуры постоянно делятся в условиях *in vitro* (вне организма), поэтому их можно перевивать непрерывно; их готовят из линий клеток, которые хорошо размножаются в течение многих лет; чаще всего эти культуры получают из опухолевых клеток. Получено около 200 штаммов таких клеток: штамм L (из культуры мышинных фибробластов), штамм HeLa (из карциномы шейки матки), штамм Нер-3 (из лимфоидной карциномы) и т.д.

Первичные и перевиваемые линии клеточных культур могут быть загрязнены неизвестными вирусами, в том числе онкогенными, это ограничивает их применение, особенно в производстве вакцин. Все работы с культурами клеток требуют строжайшего соблюдения правил асептики. К культуре клеток добавляют антибиотики против бактериального загрязнения.)

#### 137. Реакция гемадсорбции

(Гемадсорбция – адсорбция эритроцитов на поверхности пораженных вирусом клеток.

+Методика р-ии. В пробирки с зараженным вирусом культурой ткани вносят 0,2 мл 0,4%-ной взвеси эритроцитов. Пробирки встряхивают и оставляют в наклонном положении. Длительность контакта эритроцитов с клетками зависит от температуры инкубации и вида вируса. Учет реакции производят под малым увеличением микроскопа после непродолжительного покачивания пробирки для отделения неадсорбированных эритроцитов от поверхности клеток. При вирусной гемадсорбции эритроциты прочно фиксированы на клетках и сохраняются на них после 1-2 кратного отмывания. Адсорбируясь на поверхности пораженных вирусом клеток, эритроциты образуют характерные скопления.)

#### 138. Серодиагностика для обнаружения вирусов

(Серологическая диагностика, основанная на установлении значительного прироста антител к вирусам в течение болезни: реакция пассивной гемагглютинации; реакция торможения гемагглютинации; реакция связывания комплемента; иммуноферментный анализ)

#### 139. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)

(Используется для диагностики заболеваний, вызванных гемагглютинирующими вирусами. Она основана на связывании стандартного вируса (вирусный диагностикум) с антителами сыворотки больного. При отсутствии специфических антител эритроциты агглютинируются вирусом (формирование характерного "зонтика").

#### 140. Реакция связывания комплемента для обнаружения вирусов

(РСК является одной из традиционных серологических реакций и используется для диагностики многих вирусных инфекций. В реакции принимают участие две системы: антитела сыворотки больного + стандартный вирус и эритроциты барана + антитела к ним, а также комплемент. При соответствии антител и вируса этот комплекс связывает комплемент и лизиса бараньих эритроцитов не происходит (положительная реакция). При отрицательной РСК комплемент способствует лизису эритроцитов.)

#### 141. Реакция пассивной гемагглютинации для обнаружения вирусов

(РПГА – агглютинация сенсibilизированных вирусными антигенами эритроцитов в присутствии антител. На эритроцитах могут быть сорбированы любые вирусы, независимо от наличия или отсутствия у них гемагглютинирующей активности)

#### 142. ИФА для поиска противовирусных антител

(ИФА применяется для определения антител в сыворотке. На твердую фазу (дно лунок



полистироловых планшет) сорбируется вирусный антиген. При добавлении соответствующих антител, находящихся в сыворотке, происходит их связывание с сорбированными антигенами. Наличие искомым антител обнаруживается с помощью анти-антител (например, человеческих), конъюгированных с ферментом (пероксидазой). Добавление субстрата и реакция субстрат – фермент дают окраску).

## 4. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

### 4.1. Порядок проведения промежуточной аттестации

Промежуточная аттестация по дисциплине – экзамен, который сдается в форме ответа на вопросы, представленные в билете. В рамках **текущего контроля** в течение семестра для оценки знаний, умений, навыков, получаемых в ходе изучения дисциплины, учитывается коллективное выполнение лабораторных работ, формулировка выводов.

Критерием успешности освоения учебного материала **по окончании учебного семестра** (промежуточная аттестация) является экспертная оценка преподавателя, учитывающая: текущую успеваемость в течение семестра (собеседования, тесты, коллоквиумы), выполнение лабораторных работ. Кроме того, экспертная оценка преподавателя может основываться на регулярности посещения обязательных учебных занятий, успешности выполнения установленных на данный семестр объемов рабочей программы.

### 4.2. Критерии оценивания промежуточной аттестации по видам оценочных средств

#### 4.2.1. Критерии оценивания ответов на вопросы

«Отлично» – студент глубоко и полно владеет содержанием учебного материала и понятийным аппаратом; умеет связывать теорию с практикой, иллюстрировать примерами, фактами, данными научных исследований; осуществляет межпредметные связи, предложения. Делает выводы; логично, четко. Ясно и кратко излагает ответы на поставленные вопросы; умеет обосновывать свои суждения и профессионально-личностную позицию по излагаемому вопросу. Ответ носит самостоятельный характер.

«Хорошо» – ответ студента соответствует указанным выше критериям, но содержание ответа имеет отдельные неточности (несущественные ошибки) в изложении теоретического и практического материала, отличается меньшей обстоятельностью, глубиной, обоснованностью и полнотой; допущенные ошибки исправляются студентом после дополнительных вопросов преподавателя.

«Удовлетворительно» – студент обнаруживает знание и понимание основных положений учебного материала, но излагает его неполно, непоследовательно, допускает неточности и существенные ошибки в определении понятий, формулировке положений, не привлекает для аргументации ответа основные положения исследовательских, концептуальных и нормативных документов, не умеет обосновать свои суждения; наблюдается нарушение логики изложения. Ответ отличается низким уровнем самостоятельности, не содержит собственной профессионально-личностной позиции.

«Неудовлетворительно» – студент имеет разрозненные, бессистемные знания: не умеет выделять главное и второстепенное; допускает ошибки в определении понятий, формулировке теоретических положений, искажающие их смысл; не ориентируется в нормативно-концептуальных, программно-методических, исследовательских материалах, беспорядочно и неуверенно излагает материал; не умеет соединять теоретические положения с педагогической



практикой; не умеет применять знания для обоснования и объяснения фактов, не устанавливает межпредметные связи. Не владеет фактическим материалом.

#### 4.2.2. Порядок оценки результатов для инвалидов

Особенности проведения процедуры оценивания результатов обучения инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья обозначены в рабочей программе дисциплины (модуля).

#### 4.3. Результаты промежуточной аттестации и уровни сформированности компетенций

При подведении итогов учитываются результаты текущей аттестации. Итоговый контроль по дисциплине проводится в форме экзамена. На экзамене студент отвечает на вопросы билета. К сдаче экзамена допускаются студенты, которые имеют не менее 80% посещенных занятий, имеющие положительные оценки за устные ответы на практических и лабораторных занятиях и в контрольных тестах. Студент имеет право погасить свою задолженность во время текущих консультаций или в ходе итоговой аттестации.

Уровни сформированности компетенций определяется по следующим категориям.

**1. Пороговый уровень:** предполагает формирование компетенций на начальном уровне: знание содержания понятий, разнообразие микроорганизмов в природе, отличительные особенности условно-патогенных микроорганизмов, владение навыками посева микроорганизмов в питательные среды.

**2. Базовый уровень:** предполагает формирование компетенций на более высоком уровне: знания о выборе клинического материала и питательных сред для его посева, о культуральных методах выделения и идентификации клинически значимых бактерий, методах экспресс-диагностики, владение методами посева материала.

**3. Продвинутый уровень:** предполагает формирование компетенций на высоком уровне, готовность к самостоятельной профессиональной деятельности. Формируются системные знания об условно-патогенных микроорганизмах, их значении в развитии патологического процесса, принципы выделения микроорганизмов, оценка этиологической значимости выделенных микробов, решение сложных задач, знание контроля качества лабораторных исследований, нормативной документации.

Для *удовлетворительной* (положительной) оценки знаний требуется минимум *базовый уровень* усвоения учебного материала.

Особенности проведения процедуры оценивания результатов обучения у инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья обозначены в рабочей программе дисциплины.

**06.03.01 Направление подготовки Биология, ФОС РПД Микробиология.  
Вирусология, 2025 год набора, очная форма обучения**

Проректор по учебной работе      утверждено 24.02.2025      А.А. Саламатов

Ученым советом биологического факультета

Протокол заседания № 6 от 21.02.2025

Председатель Ученого совета

биологического факультета      согласовано      Д.С. Сташкевич

**Заседанием кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии**

Протокол заседания № 6 от 21.02.2025

Заведующий кафедрой      согласовано      А. Л. Бурмистрова

Автор (составитель)      Л.И. Бахарева

**Структура рабочей программы соответствует приказу ректора ФГБОУ  
ВО «ЧелГУ» от «13» апреля 2021 г. № 247-1**