Фамилия, группа

***Бактериологический метод исследования – 3-4 этапы***

Для усвоения темы и выполнения практической работы, кроме учебника и методичек, посмотрите видео:

**1этап**: <https://yandex.ru/video/preview/?filmId=12834554619449939882&from=tabbar&parent-reqid=1614590907768124-113918401889547702900129-production-app-host-vla-web-yp-84&text=1+%D1%8D%D1%82%D0%B0%D0%BF+%D0%B1%D0%B0%D0%BA+%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B0&url=http%3A%2F%2Fwww.youtube.com%2Fwatch%3Fv%3DUAq_R7jAWN8>

**2 этап:** [**https://yandex.ru/video/preview/?filmId=14413354480318766480&reqid=1614591282224151-369946842789564127900110-vla1-1937&suggest\_reqid=559400206154529124513044409714316&text=2+%D1%8D%D1%82%D0%B0%D0%BF+%D0%B1%D0%B0%D0%BA+%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B0**](https://yandex.ru/video/preview/?filmId=14413354480318766480&reqid=1614591282224151-369946842789564127900110-vla1-1937&suggest_reqid=559400206154529124513044409714316&text=2+%D1%8D%D1%82%D0%B0%D0%BF+%D0%B1%D0%B0%D0%BA+%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B0)**+**

**3 этап:** <https://yandex.ru/video/preview/?filmId=3163623728775411808&from=tabbar&parent-reqid=1614590907768124-113918401889547702900129-production-app-host-vla-web-yp-84&text=1+%D1%8D%D1%82%D0%B0%D0%BF+%D0%B1%D0%B0%D0%BA+%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B0&url=http%3A%2F%2Fwww.youtube.com%2Fwatch%3Fv%3DSJQMMLwVvAo>

***Тесты многовариантные (выберите один или несколько! правильных ответов и выделите их любым удобным способом)***

1. ПО НАЗНАЧЕНИЮ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ «ПЕСТРОГО РЯДА»
2. общеупотребляемые
3. дифференциально-диагностические
4. накопительные
5. элективные
6. сложные
7. НА III ЭТАПЕ БАКМЕТОДА ПРОВОДЯТ
8. проверку чистоты выделенной культуры
9. определение биохимической активности
10. определение подвижности
11. определение антибиотикограммы
12. изучение культуральных свойств колоний
13. ЦЕЛЬЮ МИКРОСКОПИИ КУЛЬТУРЫ НА III ЭТАПЕ БАКМЕТОДА ЯВЛЯЕТСЯ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
14. морфологической и тинкториальной однородности
15. вирулентности
16. биохимической активности
17. генотипа
18. идентификация культуры по морфо-тинкториальным свойствам
19. ПРИНЦИП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ
20. разобщение микробных клеток
21. определение промежуточных и конечных продуктов метаболизма
22. посев на среды Гисса
23. посев на МПБ
24. подбор питательной среды
25. О САХАРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ
26. наличие роста в средах Гисса
27. характер роста в МПБ
28. образование кислых продуктов метаболизма
29. образование щелочных продуктов метаболизма
30. образование газообразных продуктов метаболизма
31. О ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ БАКТЕРИЙ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ
32. образование углекислого газа
33. наличие и характер роста в МПБ
34. образование кислых продуктов метаболизма
35. образование сероводорода
36. образование индола
37. АНТИБИОТИКИ АКТИВНЫ В ОТНОШЕНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ В ФАЗЕ
38. отмирания
39. стационарной
40. логарифмической
41. лаг-фазе
42. в споровой форме
43. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОГРАММ КУЛЬТУР ВЫЗВАНО
44. природной лекарственной устойчивостью
45. приобретением лекарственной устойчивости
46. образованием L – форм микроорганизмов
47. возможностью аллергических реакций
48. фармокинетикой антибиотика
49. ВРЕМЯ ВЫДАЧИ ОТВЕТА БАКЛАБОРАТОРИЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ БЫСТРОРАСТУЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ (ВРЕМЯ ГЕНЕРАЦИИ 15-20 МИН.)
50. не позднее 3-х часов
51. 24-36 часов
52. 2-3 день
53. 3-4 день
54. 4-5 день
55. ВРЕМЯ ВЫДАЧИ ОТВЕТА БАКЛАБОРАТОРИЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЗАВИСИТ ОТ
56. времени забора материала
57. времени доставки материала
58. времени генерации выделяемого возбудителя
59. материальных возможностей лаборатории
60. профессиональной подготовки сотрудников

**ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА**

Участковый врач на приеме пациенту выставил диагноз – лакунарная ангина.

С целью определения этиологии заболевания и уточнения тактики антибактериальной терапии взят исследуемый материал и отправлен в лабораторию для бактериологического исследования.

В таблицах заполнить **Розовые колонки** (значительно облегчит работу – методички к практическому занятию 1-4 этапы и методичка по занятию Стафилококки).

**Заполнить бланк-направление в Баклабораторию.**

|  |
| --- |
| Медицинская документация  Форма № 204/у  Утв. МЗ СССР 04.10.80 № 1030  НАПРАВЛЕНИЕ №\_  **на микробиологическое исследование**  «\_\_»\_\_\_\_\_\_2020 г. \_\_\_\_час.\_\_\_\_мин.  дата и время взятия материала  В \_\_\_\_\_\_\_лабораторию  Вид исследования \_\_\_\_  Ф. И. О. \_\_\_\_\_\_\_\_\_Возраст\_\_  Отделение \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Диагноз, дата заболевания\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Показания к обследованию: больной, переболевший, реконвалесцент, бактерионоситель, контактный, профобследование (нужное подчеркнуть)  Материал: кровь, мокрота, кал, дуоденальное содержимое, пунктат, спинномозговая жидкость, раневое отделяемое, гной, выпот, секционный материал, мазок (подчеркнуть, вписать) \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Должность, фамилия, подпись лица, направляющего материал |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **I этап (1 день) бактериологического исследования** | | |
|  | | Материал для исследования:  Способ посева материала на среды: |
| 1. **Посев исследуемого материала на кровяной агар (КА) и ЖСА с целью получения изолированных колоний** | КА ЖСА (желточно-солевой агар содержит  6,5% NaCl и желток куриного яйца) | Чашки с посевом помещают в термостат (37ºС)на 24 ч |
| Принцип выделения чистых культур: | | |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***II этап (2 день) бактериологического исследования*** | |  |  |
| **Предварительная идентификация по культуральным свойствам.** | **Рост на ЖСА радужный венчик вокруг колоний - Лецитиназная активность** | **Культуральные свойства** | |
| Форма круглые | |
| Размер 3-4 мм | |
| Поверхность гладкая | |
| Край ровный | |
| Цвет слегка желтоватый пигмент | |
| Прозрачность непрозрачные | |
| Лецитиназа + | |
| Гемолиз + | |
| **Рост на КА**  **Прозрачный ободок вокруг колоний – зона гемолиза** |
| **Накопление чистой культуры на скошенном агаре (МПА)** |  | Пробирку с посевом помещают в термостат (37ºС) на 24 ч | |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **III этап бактериологического метода** | | | |
| **Проверка чистоты накопленной культуры** | |  | **Результат проверки:** |
| 1. **Предварительная идентификация выделенной культуры по морфо-тинкториальным свойствам** | | Окраска по Граму | **Морфо-тинкториальные свойства:** |
| **2)Постановка тестов для идентификации**  **Идентификация по биохимической активности** | Для идентификации по биохимической активности использовали среды Гисса с ксилозой, мальтозой, маннитолом, лактозой.  В каждую из пробирок петлёй «уколом» в столбик среды вносится чистая культура |  | Пробирки с посевом помещаются в термостат (37ºС) на 24 ч |
| **Определение коагулазной активности** | Внесение культуры в пробирку с 0,5 мл 5% плазмы кролика. |  | Пробирка с посевом помещаются в термостат (37ºС) на 24 ч |
| Среды Гисса по назначению:  Принцип изучения биохимических свойств микроорганизмов: | | | |
| **Определение каталазной активности** |  | В каплю Н2О2 петлёй добавляют культуру.  А. – капля перекиси  В. – капля перекиси с добавлением культуры | Вывод о каталазной активности: |
| **3) Постановка антибиотикограммы** | Диско-диффузионный метод. | Посев «газоном» взвеси культуры на среду и нанесение дисков с а/б | Чашку с посевом помещают в термостат (37ºС) |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **IV этап бактериологического метода** | | | |
| **Идентификация по биохимической активности**  **физиологическим свойствам (их также можно определить, так как культура посеяна в среды Гисса с агаром пожидкой консистенции)** |  | **Результаты идентификации по биохимической активности:** | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
| **Подвижность:**  **Тип дыхания:** | |
| **Идентификация по коагулазной активности** | **Верхняя пробирка - опыт**  **Нижняя пробирка – контроль** |  | |
| **Окончательная идентификация выделенной культуры по совокупности всех признаков, определяемых на всех этапах бакметода (для идентификации используйте таблицы приложения «Определитель бактерий Берджи»** | | | |
| **Выделена и идентифицирована культура:** | | | |
| **Определить чувствительность к антибиотикам**  (для объективного исследования обратите внимание, что диаметр чашки должен быть 100 мм).  Справочные таблицы см. в Приложении |  | | Диски перечислены сверху по часовой стрелке:  Р (бензилпенициллин)  FOX (цефокситин)  E (эритромицин)  ТЕ (тетрациклин)  SXT (сульфаметоксазол/триметоприм)  ОХ (оксациллин) |
| **Критерий учета при определении чувствительности культуры к антибиотикам:**  **Критерий оценки результатов:**  **Заполните ответ из лаборатории на спец бланке.** | | | |

|  |
| --- |
| Медицинская документация  Форма № 239/у  Утв. МЗ СССР 04.10.80 № 1030 **РЕЗУЛЬТАТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ №\_\_** «\_\_»\_\_\_\_\_\_2020 г.  дата взятия биоматериала  Ф. И. О. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Возраст\_\_\_\_\_  Отделение \_\_\_\_\_  При исследовании \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  **указать материал и результат** **АНТИБИОГРАММА** Цефокситин 1 2 3 Канамицин 1 2 3  Гентамицин 1 2 3 Бензилпенициллин 1 2 3  Тетрациклин 1 2 3 Ампициллин 1 2 3  Эритромицин 1 2 3 Карбенициллин 1 2 3  Линкомицин 1 2 3 Ципрофлоксацин 1 2 3  Сульфаметаксазол 1 2 3 Оксациллин 1 2 3  Условные обозначения: 1 - культура устойчива; 2 - умеренно устойчива; 3 – чувствительна  «\_\_»\_\_\_\_\_2020 г. Подпись\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  дата выдачи результата |

**Приложения**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Диапазоны значений диаметров зон подавления роста (для стафилококков)** | | | |
| АМП | Ч | У/Ч | Р |
| Бензилпенициллин | ≥ 29 | **–** | ≤ 28 |
| Ванкомицин | ≥ 15 | **–** | **–** |
| Норфлоксацин | ≥ 17 | 13-16 | ≤ 12 |
| Клиндамицин | ≥ 21 | 15-20 | ≤ 14 |
| Сульфаметоксазол/триметоприм | ≥ 16 | 11-14 | ≤ 10 |
| Эритромицин | ≥ 23 | 14-22 | ≤ 13 |
| Тетрациклин | ≥19 | 15-18 | ≤14 |
| **Цефокситин** для *S. aureus*  Для коагулазонегативных стафилококков | ≥22  ≥25 | **–**  **–** | ≤21  ≤25 |
| **Оксациллин** для *S. aureus*  Для коагулазонегативных стафилококков | ≥13  ≥18 | 11-12  **–** | ≤10  ≤17 |

**СХЕМА ПОЛЬЗОВАНИЯ ОПРЕДЕЛИТЕЛЕМ БАКТЕРИЙ БЕРДЖИ**

(9-е изд., 1994; пер. с анг. «Определитель бактерий Берджи». В 2-х т. М.: Мир, 1997)

При работе с таблицами необходимо определять номер категории, к которой можно отнести идентифицируемый микроорганизм, а затем номер группы и номер таблицы в которой есть подходящие признаки, - пошагово продвигаясь к идентификации до вида. Выделите в таблицах цветом, те пункты, которые оказались нужны для идентификации данной в этом задании исследуемой культуры.

**Этап 1. Отнесение выделенного микроба к одной из основных категорий (глава IV)**

1. Грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточные стенки
2. Грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки
3. Эубактерии, лишенные клеточных стенок
4. Архебактерии

**Этап 2. Отнесение выделенного микроба к определенной группе, входящей в**

**соответствующую категорию (глава V)**

Таблица V. 1.

Группы основной категории I (грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточные стенки)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа** | **Название** | **Примечание** |
| 1 | Спирохеты. | Для человека патогенны представители родов *Treponema, Borrelia и Leptospira*. |
| 2 | Аэробные и микроаэрофильные подвижные извитые и изогнутые грамотрицательные бактерии. | Патогенные для человека виды входят в роды *Campylobacter, Helicobacters Spirillum.* |
| 3 | Неподвижные (редко подвижные) грамотрицательные бактерии. | Не содержит патогенные виды. |
| 4 | Грамотрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки и кокки. | Патогенные для человека виды включены в состав семейств *Legionellaceae, Neisseriaceae и Pseudomonadaсеае,* в группу входят также патогенные и условно-патогенные бактерии родов *Acinetobacter, Afipia, Alcaligenes, Bordetella, Brucella, Flavobacterium, Francisella, Kingella и Moraxella.* |
| 5 | Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки. | Группа образована тремя семействами — *Enterobacteriaceae, Vibrionaceae и Pasteurellaceae*, каждое из которых включает патогенные для человека виды, а также патогенные и условно-патогенные бактерии родов *Calymmobaterium, Cardiobacterium, Eikenetta, Gardnerella и Streptobacillus.* |
| 6 | Грамотрицательные анаэробные прямые, изогнутые и спиральные бактерии. | Патогенные и условно-патогенные виды входят в состав родов *Bacteroides, Fusobacterium, Porphoromonas и Prevotelta.* |
| 7 | Бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление сульфата или серы. | Не включает патогенные виды. |
| 8 | Анаэробные грамотрицательные кокки. | Включает условно-патогенные бактерии poда *Veillonella.* |
| 9 | Риккетсии и хламидии. | Три семейства — *Rickettsiaceae, Bartonellaceae и Chlamydiaсеае*, каждое из которых содержит патогенные для человека виды. |
| 10 | Аноксигенные фототрофные бактерии. | Не патогенные для человека. |
| 11 | Оксигенные фототрофные бактерии. |
| 12 | Аэробные хемолитотрофные бактерии и родственные организмы. | Объединяет серо-, железо- и марганецокисляющие и нитрифицирующие бактерии, не вызывающие поражения у человека. |
| 13 | Почкующиеся и/или обладающие выростами бактерии. | Представлены свободноживущими видами, не патогенными для человека. |
| 14 | Бактерии образующие футляры. |
| 15 | Скользящие бактерии, не образующие плодовые тела. | Группы не включают виды, патогенные для человека. |
| 16 | Скользящие бактерии, образующие плодовые тела. |

Таблица V. 2.

Группы основной категории II (грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа** | **Название** | **Примечание** |
| 17 | Грамположительные кокки. | Включает условно-патогенные виды родов *Enterococcus Leuconostoc, Peptococcus, Peptostreptococcus, Sarcina, Staphylococcus, Stomatococcus, Streptococcus.* |
| 18 | Спорообразующие грамположительные палочки и кокки. | Включает патогенные, условно-патогенные палочки родов *Clostridium и Bacillus.* |
| 19 | Споронеобразующие грамположительные палочки правильной формы. | Включает условно-патогенные виды родов *Erysipelothrix и Listeria.* |
| 20 | Споронеобразующие грамположительные палочки неправильной формы. | В состав группы входят патогенные и условно-патогенные виды родов *Actinomyces, Corynebacterium Gardnerella, Mobiluncus* и др. |
| 21 | Микобактерии. | Включает единственный род *Mycobacterium,* объединяющий патогенные и условно-патогенные виды. |
| 22-29 | Актиномицеты. | Среди многочисленных видов лишь нокардиоформные актиномицеты (группа 22) родов *Gordona, Nocardia, Rhodococcus, Tsukamurella, Jonesia, Oerskovi и Terrabacter* способны вызывать поражения у человека. |

Таблица V. 3.

Группы основной категории III (эубактерии, лишенные клеточной стенки:

микоплазмы или молликуты)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа** | **Название** | **Примечание** |
| 30 | Микоплазмы. | Патогенны для человека виды, включённые в состав рода *Acholeplasma, Mycoplasma и Ureaplasma*. |

Таблица V. 4.

Группы основной категории IV (Archaeobactera)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа** | **Название** | **Примечание** |
| 31 | Метаногенные бактерии. | Не содержат патогенные для человека виды. |
| 32 | Сульфатредуцируюшие бактерии. |
| 33 | Экстремально галофильные аэробные архебактерии. |
| 34 | Архебактерии, лишённые клеточно стенки. |
| 35 | Экстремальные термофилы и гипертермофилы, метаболизируюшие серу. |

**ГРУППА 5. Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки**

Таблица 5. 1.

Дифференцирующие признаки семейств, входящих в группу 5

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Признак | Сем.  *Епterobacteriaceae* | Сем.  *Vibrionaceae* | Сем.  *Pasteurellaceae* |
| Диаметр клеток, мкм | 0,3 х 1,5 | 0,3 х 1,3 | 0,2 х 0,4 |
| Основная форма клеток:   * прямая палочковидная * изогнутая | + | D | + |
| - | D | - |
| Кислота из D-глюкозы | + | + | + |
| Подвижность | D | + | - |
| Расположение жгутиков:   * полярное * латеральное * смешанное | - | + |  |
| + | - |  |
| - | D |  |
| Оксидаза | - | D | D |
| Каталаза | + | D | D |

Таблица 5. 2.

Биохимическая дифференциация некоторых видов семейства *Епterobacteriaceae*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | *Escherichia*  *coli* | *Klebsiella*  *pneumoniae* | *Salmonella*  *choleraesuis*  *subsp.salamae* | *Shigella boydii,*  *S. dysenteriae, S.flexneri* |
| Окраска по Граму (24ч) | - | - | - | - |
| Оксидаза (24ч) | - | - | - | - |
| Индол | + (-) | - | - | d |
| Цитрат (среда Симмонса) | - | (-)+ | + | - |
| Н2S | - | - | + | - |
| Подвижность | + (-) | - | + | - |
| Образование кислоты из D-глюкозы | + | + | + | + |
| Образование газа из D-глюкозы | + | + | + | - |
| Образование кислоты из:   * лактозы * D-маннитола | + | + | - | - |
| + | + | + | + |
| Ацетат | + | + | + | - |
| Каталаза (24ч) | + | + | + | + |
| Окисление-брожение | F | + | F | F |

**ГРУППА 17. Грамположительные кокки**

Таблица 17. 2.

Дифференцирующие признаки некоторых родов факультативно-анаэробных

грамположительных кокков

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Признак | *Enterococcus* | *Staphylococcus* | *Streptococcus* |
| Преимущественное расположение клеток | Пары, цепочки | Группы, пары | Цепочки, пары |
| Подвижность | D | - | - |
| Рост при:   * 10°С * 45°С * рН 9,6 | + | D | D |
| + | + | D |
| + |  | D |
| Рост в присутствии:   * 6,5% NaCl * 40% желчи | + | + | D |
| + | D | D |
| Каталаза | - | + | - |

Таблица 17. 15.

Дифференцирующие признаки некоторых видов и подвидов рода *Staphylococcus*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Признак | S. aureus | S.  intermedius | S.  epidermidis | S.  haemo- lyticus | S. hominis | S.  sapro- phyticus |
| Пигментация колоний | + | - | - | d | d | d |
| Рост в аэробных условиях | + | + | + | + | + | + |
| Рост в анаэробных условиях | + | + | + | (+) | - w | (+) |
| Оксидаза | - | - | - | - | - | - |
| Образование кислоты (в аэробных условиях) из:   * D-ксилозы * сахарозы * мальтозы * D-маннитола * D-трегазозы * L-лактозы | - | - | - | - | - | - |
| + | + | + | + | (+) | + |
| + | (w) | + | + | + | + |
| + | (d) | - | d | - | d |
| + | + | - | + | d | + |
| + | d | d | d | d | d |
| Коагулаза | + | + | - | - | - | - |
| Гемолиз | + | d | - w | (+) | - w | - |
| ДНК-аза | + | + | - w | ds | - w | - |

**Обозначения:**

**+** 90% и более штаммов положительные

- 90% и более штаммов отрицательные

d 11-89% штаммов положительные

( ) реакция с задержкой;

w реакция слабая

- w реакция от отрицательной до слабой

ds тест выявляет подвиды, не выделенные в шапке таблицы

D различные реакции у разных таксонов (видов одного рода или родов одного семейства)

F ферментация