

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

МОДУЛЬ 1

**МОРФОЛОГІЯ И ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.
ІНФЕКЦІЯ. ІМУНІТЕТ**

*Методичні вказівки для студентів
II та III курсів медичних факультетів*

Рекомендовано
вченою радою ХНМУ
Протокол № 11 від 15.10.09.

Харків ХНМУ 2009

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет: метод. вказ. для студентів II та III курсів мед. ф-ту /Упор.: А.Я. Циганенко, В.В. Мінухін, Н.В. Павленко та ін. – Харків: ХНМУ, 2009 – 104 с.

Упорядники А.Я. Циганенко
В.В. Мінухін
Н.В. Павленко
Л.С. Габишева
В.Л. Ткаченко
Н.І. Коваленко
М.М. Мішина
Л.І. Днестранська
Ю.А. Мозгова
К.В. Конь
Л.В. Краснікова

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 1

Тема: Правила роботи у мікробіологічній лабораторії. Імерсійний мікроскоп. Кулясті бактерії. Прості методи фарбування.

Мета: Освоєння практичних навичок роботи в мікробіологічній лабораторії, приготування мазків, фарбування простими методами.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунитет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокаріотів та паразитичних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 1. Правила роботи у мікробіологічній лабораторії. Імерсійний мікроскоп. Кулясті бактерії. Прості методи фарбування.

Актуальність теми. Сучасні бактеріологічні лабораторії потребують особливого режиму роботи. При організації лабораторій насамперед необхідно забезпечити безпеку роботи співробітників. Учбова кімната теж є в деякій мірі бактеріологічною лабораторією і студенти при виконанні самостійної роботи теж повинні виконувати правила техніки безпеки.

При вивченні мікроскопічних препаратів використовують імерсійні мікроскопи, які мають перевагу перед світловими. Завдяки використанню імерсійної олії (кедрової або вазелінової), показник переломлення якого дорівнює показнику переломлення скла, роздільна здатність імерсійного мікроскопу дорівнює 0,2 мкм.

Знання морфології бактерій має велике значення для мікроскопічного методу лабораторної діагностики інфекційних захворювань. Вивчення морфології бактерій здійснюється при мікроскопії пофарбованих мікроскопічних препаратів.

До простих методів фарбування відносяться методи фарбування метиленовим синім та карболовим фуксином. Фарбування метиленовим синім проводиться протягом 3-5 хвилин, а фарбування карболовим фуксином – 1-2 хвилини.

Коки - це кулясті бактерії, які в залежності від розташування поділяються на мікрококи, диплококи, стафілококи, стрептококи, тетракоки та сарцини.

Мікрококи розташовуються у вигляді окремих клітин, диплококи – парами (гонокок, менінгокок), стрептококи – у вигляді ланцюга, стафілококи – неправильними скупченнями у вигляді гронів винограду.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитись з правилами роботи у бактеріологічній лабораторії.

2. Трактувати методики приготування бактеріологічного препарату.
3. Робити висновки з мікроскопії бактеріологічних препаратів при використанні імерсійного об'єктиву.
4. Описувати морфологічні форми кулястих бактерій.
5. Трактувати результати мікроскопічного дослідження мікроорганізмів.
6. Аналізувати морфологію кулястих бактерій.

Уміти:

1. Готувати мікропрепарати із чистих культур кулястих бактерій.
2. Фарбувати мікропрепарати простими методами (метиленовим синім та фуксином)
3. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопу.
4. Аналізувати морфологію кулястих бактерій.

Теоретичні питання:

1. Правила роботи у бактеріологічній лабораторії.
2. Будова імерсійного мікроскопа.
3. Характеристики імерсійного об'єктива.
4. Правила наведення мікроскопа для мікроскопіювання пофарбованих препаратів.
5. Фарбуючі розчини для простого фарбування.
6. Техніка приготування препаратів із культур бактерій та просте фарбування мазків.
7. Кулясті бактерії, їх морфологія.
8. Приклади коків патогенних для людини та захворювань, спричинених ними.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Приготування мікропрепаратів із чистих культур кулястих бактерій.
2. Фарбування мікропрепаратів простими методами.
3. Мікроскопія мікропрепаратів із чистих культур бактерій, їх аналіз та замальовування у протокол.
4. Мікроскопія демонстраційних мікропрепаратів: стафілокок (фарбування метиленовим синім), стрептокок (фарбування метиленовим синім), пневмокок (фарбування метиленовим синім), гонокок (фарбування метиленовим синім), менінгокок (фарбування фуксином).
5. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів у протокол.
6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 768 с.

4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із вивчення правил техніки безпеки при роботі у бактеріологічній лабораторії, вивчення правил роботи із імерсійним мікроскопом. Студенти готують мікропрепарати, фарбують їх простими методами та проводять мікроскопію. Потім студенти замальовують мікропрепарати та дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів, та їх замальовування.

Наприкінці заняття проводиться тестовий контроль та аналіз підсумків результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У чоловіка 54 років, що страждає на хронічний тонзиліт, у мазку із зіва виявлені кулясті бактерії, які утворюють гроноподібні скупчення. Як називаються бактерії з таким розташуванням?

- | | | |
|----------------|----------------|--------------|
| A. Стафілококи | B. Стрептококи | C. Мікрококи |
| D. Сарцини | E. Менінгококи | |

2. При плановому обстеженні персоналу одного із дитячих садків на бактеріоносійство патогенних бактерій, у однієї з виховательок виділена чиста культура кулястих бактерій. При мікроскопії у мікропрепараті виявлені грампозитивні бактерії у вигляді коротких ланцюжків. Носійство якого виду бактерій можна запідозрити у цьому випадку?

- | | | |
|----------------|----------------|--------------|
| A. Менінгококи | B. Стрептококи | C. Мікрококи |
| D. Сарцини | E. Стафілококи | |

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 2

Тема: Паличкоподібні бактерії. Фарбування за методом Грама. Ультраструктура бактеріальної клітини.

Мета: Освоєння практичних навичок фарбування за методом Грама. Вивчення структури бактеріальної клітини.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокаріотів та паразитичних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 2. Паличкоподібні бактерії. Фарбування за методом Грама. Ультраструктура бактеріальної клітини.

Актуальність теми. За своєю структурою бактерії (прокаріоти) істотно відрізняються від еукаріотичної клітини. Прокаріоти – гапліодні організми, які містять один геном, не мають ядра і більшості органелів. Складаються з нуклеоїду, цитоплазми і оболонки. У цитоплазмі можуть знаходитися плазмідні – генетичні структури у вигляді невеликих молекул ДНК, рибосоми та включення. Включення можуть бути у вигляді волотина, глікогена, гранулози, пігментів, краплин сірки, кальцію гідрокарбонату. Вивчення морфології бактерій здійснюється при мікроскопії пофарбованих мікроскопічних препаратів. Основним методом фарбування бактерій є фарбування за методом Грама. Відповідно до особливостей фарбування за Грамом усі бактерії поділяються на грампозитивні та грамнегативні. Цій ознаці надають великого значення в сучасній таксономії. Поділ на групи залежить від будови клітинної стінки. Основна речовина клітинної стінки – пептидоглікан (муреїн), зв'язаний з ліпопротеїдами, фосфоліпідами, ліпополісахаридами. У клітинній стінці грампозитивних бактерій вміст пептидоглікану становить 90 %, а у грамнегативних – 5-20 %. У грам позитивних бактерій є шар глікопептидів з тейхоевою кислотою, яка зумовлює стабільність ферментів клітини. При фарбуванні за Грамом, така будова клітинної стінки грампозитивних бактерій зумовлює стійке з'єднання її з генціанвіолетом та розчином Люголю і бактерії навіть після обробки спиртом залишаються синьо-фіолетового кольору. Грамнегативні бактерії знебарвлюються спиртом і при додатковому фарбуванні фуксином стають червоними або рожевими.

Знання морфології паличкоподібних бактерій має велике значення, так як більшість інфекційних хвороб викликаються саме паличкоподібними бактеріями. Вони поділяються на власне бактерії, бацили та кластридії. Довжина паличкоподібних бактерій 1-10 мкм, товщина – 0,5-2 мкм. До власне бактерій належать бактерії, які не утворюють спор (ешерихії, ши-

гели, збудники дифтерії та ін.). Бацили і кластридії здебільшого утворюють спори і відрізняються місцем розташування спори, характером кінців паличок та їх розташуванням. Так кластридії мають загострені кінці і нагадують веретенце, а у бацил кінці паличок обрубані. До бацил відносять збудника сибірки, до кластридій – збудників правця, ботулізму та ін.

Конкретні цілі:

1. Вивчити ультраструктуру бактеріальної клітини.
2. Проаналізувати відмінності у будові еукаріотів (найпростіших) та прокаріотів.
3. Ознайомитись з будовою клітинної стінки бактерій у грампозитивних та грамнегативних бактерій.
4. Робити висновки з мікроскопії грампозитивних та грамнегативних бактерій.
5. Описувати морфологічні форми паличкоподібних бактерій.
6. Аналізувати морфологію паличкоподібних бактерій.

Уміти:

1. Готувати мікропрепарати із чистих культур паличкоподібних бактерій.
2. Готувати мікропрепарати із суміші бактерій.
3. Фарбувати мікропрепарати за методом Грама.
4. Розпізнавати грампозитивні та грамнегативні бактерії у суміші бактерій.
5. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопу.
6. Аналізувати морфологію паличкоподібних бактерій.

Теоретичні питання:

1. Морфологія паличкоподібних бактерій.
2. Поділ паличкоподібних бактерій за формою, розміром, характером їх кінців та взаємному розташуванню.
3. Поділ паличок на бактерії, бацили та кластридії.
4. Ультраструктура бактеріальної клітини.
5. Будова клітинної стінки у грампозитивних і грамнегативних бактерій.
6. Фарбування за методом Грама (механізм методу, техніка).
7. Відношення різних груп бактерій до фарбування за Грамом. Практичне значення.
8. Приклади грампозитивних і грамнегативних бактерій, патогенних для людини, та захворювань, спричинених ними.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Приготування мікропрепаратів із чистих культур паличкоподібних бактерій та суміші бактерій.

2. Фарбування мікропрепаратів за методом Грама.
3. Мікроскопія мікропрепаратів із чистих культур паличкоподібних бактерій, їх аналіз та замальовування у протокол.
4. Мікроскопія демонстраційних мікропрепаратів: власне бактерії, стрептобацили, еритроцити та палички (фарбування за методом Грама)
5. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів у протокол.
6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология / Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.
3. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із приготування мікропрепаратів із чистих культур паличкоподібних бактерій та суміші бактерій, фарбування їх за Грамом, проведення мікроскопії. Потім студенти замальовують мікропрепарати та дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів, та їх замальовування.

Наприкінці заняття проводиться тестовий контроль та аналіз підсумків результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. До лікарні звернувся ветеринарний лікар з приводу утворення на шкірі карбункула. При мікроскопії гною із карбункулу виявили грамозитивні стрептобацили. Які бактерії могли викликати утворення карбункулу у цьому випадку?

- | | |
|-------------------------|-----------------------|
| A. Збудник правця. | B. Збудники дифтерії. |
| C. Збудники ботулізму | D. Збудники сибірки |
| E. Збудник туберкульозу | |

2. У дитини 5 років, що страждає на ангіну у мазці із зіва виявили бактерії, які мали булавоподібні стовщення на кінцях. Як називаються бактерії з такою морфологією?

- A. Збудник правця.
- B. Збудники дифтерії.
- C. Збудники ботулізму
- D. Збудники сибірки
- E. Збудник туберкульозу

3. Відомо, що ДНК у клітинах прокариотів утворює нуклеоїд. Яка з перелікованих структур клітин бактерій також може бути носієм генетичної інформації, крім нуклеоїда?

- A. Рибосоми
- B. Джгутики
- C. Капсула
- D. Мезосоми
- E. Плазмід

4. Під час самостійної роботи студентам запропоновано виявити внутрішньоклітинні включення глікогену у аеробних бацил. Яким розчином треба провести обробку препарату для виявлення глікогену?

- A. Розчином генціанвіолету
- B. Розчином фуксину
- C. Розчином Люголя
- D. Розчином метиленового синього
- E. Розчином спирту

5. У новонародженій дитині, яка хворіє на колі-ентерит, при бактеріологічному дослідженні фекалій ізольовано чисту культуру бактерій, які у мікропрепаратах мали вигляд маленьких грамнегативних безпорядно розташованих паличок із закругленими кінцями. Які бактерії були ізольовані у даному випадку?

- A. Ешерихії
- B. Стрептобацили
- C. Коринебактерії
- D. Клостридії
- E. Стрептобактерії

6. Відомо, що у цитоплазмі прокариотів є різноманітні включення. Які включення, що мають діагностичне значення, можна виявити у *Corynebacterium diphtheriae*?

- A. Глікоген
- B. Волютин
- C. Гранульоза
- D. Пігмент
- E. Сірка

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення морфології паличкоподібних бактерій.
2. Вивчення ультраструктури бактеріальної клітини.
3. Ознайомлення з теоретичним обґрунтуванням та технікою фарбування бактерій за Грамом.
4. Приготування мазків із культур антракоїду та кишкової палички стафілококу.
5. Фіксація мазків полум'ям.
6. Фарбування мазків за Грамом.
7. Мікроскопія мазків за допомогою імерсійного мікроскопу.
8. Мікроскопія та аналіз демонстраційних препаратів.
9. Замальовування препаратів у протокол.
11. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: Вібріони. Спірохети. Джгутики у бактерій. Вивчення рухливості

Мета: Вивчення морфології звитих мікроорганізмів.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 1 Морфологія і структура прокариотів та паразитичних одноклітинних еукариотів.

Тема заняття 3. Вібріони. Спірохети. Джгутики у бактерій. Вивчення рухливості.

Актуальність теми. Знання морфології вібріонів і спірохет має велике значення для мікроскопічного методу лабораторної діагностики інфекційних хвороб. Вивчення морфології здійснюється як у забарвлених за допомогою імерсійного мікроскопа, так і в нативних препаратах за допомогою мікроскопів з темним полем зору і фазово-контрастного.

Вібріони - увігнута паличка, за Грамом - негативна, монотрих.

Спірохети - мікроорганізми у вигляді спіралі, рухомі.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитися з представниками вібріонів і спірохет.
2. Відпрацьовувати методики приготування препаратів висячої і надаленої краплі для вивчення рухливості бактерій.
3. Описувати морфологічні властивості звитих бактерій.
4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження мікроорганізмів.
5. Аналізувати морфологію вібріонів і спірохет.

Уміти:

1. Готувати мікропрепарати з чистих культур звитих бактерій, забарвлювати їх за Грамом і Буррі.
2. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного і з темним полем зору мікроскопів.
3. Аналізувати морфологію звитих бактерій (вібріонів, спірохет).

Теоретичні питання:

1. Назвати представників патогенних вібріонів.
2. Охарактеризувати морфологію вібріонів.
3. Назвати класифікацію патогенних спірохет.
4. Спірохети. Структура і властивості.
5. Ділення бактерій за характером рухливості.
6. Джгутики, їх структура, функції. Ділення бактерій за кількістю і розташуванням джгутиків.

7. Методи вивчення рухливості вібріонів, спірохет.

8. Спеціальні мікроскопи для вивчення рухливості - фазово-контрастний і з темним полем зору (принцип будови, можливості застосування для спостереження за рухливістю).

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Приготування мазків з культур вібріонів, забарвлення за Грамом.
2. Проглядання демонстраційних мікропрепаратів: вібріон, забарвлення за Грамом, спірохети, забарвлення за Буррі, Романовським-Гімзою і срібріння.
3. Демонстрація приготування висячої і надавленої краплі.
4. Розбір схем мікроскопів: фазово-контрастного, з темним полем зору.
5. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

3. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з приготування мазків з культури вібріонів, забарвлення за Грамом, мікроскопії. Студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Для вивчення бактерій в нативному препараті використовуються спеціальні мікроскопи. Який з перерахованих мікроскопів можна використовувати для мікроскопії препарату „висяча крапля”?

- А. Мікроскоп з темним полем зору В. Світловий мікроскоп
С. Люмінесцентний мікроскоп Д. Імерсійний мікроскоп

Е. Електронний мікроскоп

2. У мазці з випорожнень хворого виявлені грамнегативні бактерії у вигляді «коми». Які властивості слід, перш за все, вивчати за допомогою мікроскопа для отримання додаткової інформації про виявлені мікроби?

А. Наявність джгутиків

В. Наявність капсул

С. Наявність спор

Д. Наявність включень волютина

Е. Наявність включень глікогена

3. При огляді ротової порожнини пацієнта N, лікар-стоматолог виявив, що одна з мигдалин збільшена, червоного кольору, при дотику шпателем - безболісна. Підщелепні лімфовузли збільшені. При мікроскопії в темному полі зору виявлені рухомі, спіралевидні, грамнегативні мікроорганізми. До якої морфологічної групи належать ці мікроорганізми?

А. Спірохети

В. Гонококи

С. Стрептококи

Д. Стафілококи

Е. Менінгококи

4. Від хворого з симптомами зневоднення, унаслідок профузного поносу і блювоти, узяли для дослідження блювотні маси. При мікроскопії виявили грамнегативні, рухомі, злегка зігнуті палички. Для якого збудника характерні ці властивості?

А. Збудників харчових токсикоінфекцій сальмонельозної етіології

В. Збудників дизентерії

С. Збудників колієнтерита

Д. Збудників холери

Е. Збудників черевного тифу

5. Відомо, що для забарвлення спірохет використовуються спеціальні методи. Який з перерахованих методів забарвлення є для спірохет диференційно-діагностичним?

А. Романовського-Гімза

В. Грама

С. Морозова

Д. Буррі-Гінса

Е. Ганзена

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Приготування мазків з культури холерного вібриона.
2. Фіксація мазка полум'ям.
3. Забарвлення мікропрепаратів за Грамом.
4. Мікроскопія мазків за допомогою імерсійного мікроскопа.
5. Демонстрація приготування висячої і роздавленої крапель.
6. Вивчення рухливості в демонстраційних препаратах за допомогою фазово-контрастного мікроскопа.
7. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
8. Зарисовка препаратів в протокол.
9. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 4

Тема: Споры. Спороутворення. Методи забарвлення спор.

Мета: Вивчення морфології спороутворюючих мікроорганізмів.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокариотів та паразитичних одноклітинних еукариотів.

Тема заняття 4. Споры. Спороутворення. Методи забарвлення спор.

Актуальність теми. Знання морфології має велике значення для мікроскопічного методу лабораторної діагностики інфекційних захворювань. Вивчення морфології бактерій здійснюється при мікроскопії забарвлених мікропрепаратів. Важливо при цьому виявити такі компоненти мікробної клітини, як споры. Тільки незначна кількість бактерій утворює споры: клостридії правця, ботулізму, газової раневої інфекції, збудник сибірської виразки. Диференціальною ознакою спор є їх розташування щодо клітини. Споры виявляють фарбуванням за методом Ганзена, Грама.

Конкретні цілі:

1. Навчити методиці приготування бактеріологічного препарату для виявлення спор.
2. Практикувати методики фарбування спор.
3. Робити висновки про мікроскопію бактеріологічних препаратів при використанні імерсійного мікроскопа.
4. Описувати диференціальні ознаки розташування спор щодо мікробної клітини.
5. Практикувати результати мікроскопічного дослідження мікропрепаратів.
6. Проаналізувати морфологію спороутворюючих бактерій в цілому.

Уміти:

1. Готувати мікропрепарати із спороутворюючих бактерій;
2. Забарвлювати мікропрепарати за Ганзеном;
3. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопа;
4. Аналізувати морфологію бактерій, утворюючих споры.

Теоретичні питання:

1. У яких умовах і як відбувається процес спороутворення (стадії)?
2. Порівняльна стійкість спор і вегетативної форми бактерій.
3. Використовувати ознаки спороутворення для ідентифікації бактерій.

4. Форма, розташування спор і їх величина щодо діаметру вегетативної клітини, характерні для окремих видів.

5. Назвати бактерії, утворюючі спори, і захворювання, викликані ними. Пояснити, чому одні з них називаються клостридіями, а інші - бацилами.

6. Основний метод забарвлення спор (за Ганzenом).

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Приготування мікропрепаратів із спороутворюючих бактерій.

2. Забарвлення мікропрепаратів за Ганzenом.

3. Мікроскопія власних мікропрепаратів, їх аналіз і зарисовка в протокол.

4. Мікроскопія демонстраційних препаратів: клостридії (термінальна, субтермінальна спора), бацила (центральна спора), забарвлення за Ганzenом і за Грамом.

5. Зарисовка демонстраційних препаратів в протокол.

6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з приготування мазків із спороутворюючих культур, забарвлення їх за методом Ганzenа, проведення мікроскопії. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення.

До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. З м'ясних консервів виділена культура *Clostridium botulinum*. Який з перерахованих методів забарвлення необхідно використовувати для виявлення спор у цього збудника?

- A. Буррі-Гінса В. Романовського-Гімзи С. Ганзена
D. Леффлера Е. Буррі

2. Відомо, що спори в бактеріальній клітині можуть розташовуватися центрально, субтермінально і термінально. Для яких бактерій характерне центральне розташування спор?

- A. *Bacillus anthracis* В. *E. coli*
C. *Clostridium botulinum* D. *Clostridium difficile*
E. *Clostridium tetani*

3. Відомо, що спори в бактеріальній клітині можуть розташовуватися центрально, субтермінально і термінально. Для яких бактерій характерне термінальне розташування спор?

- A. *Bacillus anthracis* В. *Bacillus cereus*
C. *Clostridium botulinum* D. *Clostridium difficile*
E. *Clostridium tetani*

4. Відомо, що спори в бактеріальній клітині можуть розташовуватися центрально, субтермінально і термінально. Для яких бактерій характерне субтермінальне розташування спор?

- A. *Bacillus anthracis* В. *E. coli*
C. *Clostridium botulinum* D. *Clostridium difficile*
E. *Clostridium tetani*

5. Для виявлення спор у бактерій використовуються спеціальні методи забарвлення. Який з перерахованих методів можна використовувати для виявлення спор у *Cl. tetani*?

- A. Циля-Нільсена В. Романовського-Гімзи
C. Ганзена D. Гінса Е. Буррі

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Приготування мазків з культури спороутворюючих бактерій.
2. Фіксація мазків полум'ям.
3. Фарбування мазків за методом Ганзена згідно освоенного методу.
4. Мікроскопія мазків за допомогою імерсійного мікроскопа.
5. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
6. Зарисовка препаратів в протокол.
7. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: Капсули у бактерій і методи їх виявлення.

Мета: Вивчення морфології мікроорганізмів, утворюючих капсулу.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокаріотів та паразитичних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 5. Капсули у бактерій і методи їх виявлення.

Актуальність теми. Знання морфології має велике значення для мікроскопічного методу лабораторної діагностики інфекційних захворювань. Вивчення морфології бактерій здійснюється при мікроскопії забарвлених мікропрепаратів. Вивчення окремих компонентів мікробної клітини і виявлення (капсул, зерен волютини) грає важливу роль в диференціації патогенних і непатогенних мікроорганізмів. Деякі бактерії утворюють капсули, як в організмі людини, так і на живильних середовищах. Для їх виявлення існують спеціальні методи.

Капсули у деяких бактерій – зовнішній шар оболонки, який переходить в слизисту кулю. Ці бактерії виділені в окрему групу під назвою капсульних бактерій. Виявити капсулу можливо за методом Буррі-Гінса, при забарвленні метиленою синькою.

Конкретні цілі:

1. Виявити капсули в мікропрепаратах з чистих культур, забарвлення за методом Буррі-Гінса.
2. Виявити капсули в препаратах-відбитках з органів, забарвлених метиленою синькою.
3. Робити висновки про мікроскопію бактеріологічних препаратів (капсульних) при використанні імерсійного мікроскопа.
4. Описувати диференціальні ознаки розташування спор щодо мікробної клітини.
5. Проаналізувати результати мікроскопічного дослідження мікроорганізмів, утворюючих капсулу, при забарвленні їх за методом Буррі-Гінса і метиленою синькою.

Уміти:

1. Приготувати препарати для виявлення капсул;
2. Офарблювати капсульні бактерії за методом Буррі-Гінса, метиленою синькою;

3. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопа;

4. Аналізувати морфологію капсульних бактерій.

Теоретичні питання:

1. Капсули у бактерій.

2. Хімічний склад капсул.

3. Мікроби, утворюючі капсули тільки в організмі, а також за його межами.

4. Значення капсулоутворення у мікробів.

5. Використання ознаки капсулоутворення з метою діагностики.

6. Методика виявлення капсул в препаратах з чистих культур, забарвлених за методом Буррі-Гінса.

7. Методика виявлення капсул в препаратах-відбитках з органів.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Приготування мікропрепаратів з капсульних бактерій за методом Буррі-Гінса.

2. Проглядання демонстраційних препаратів, забарвлених за методом Буррі-Гінса.

3. Проглядання препарату-відбитку, забарвленого метиленовою синькою (збудник сибірської виразки).

4. Зарисовка демонстраційних препаратів в протокол.

5. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Мікробіологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з приготування мікропрепаратів, забарвлення їх за методом Буррі-Гінса, проведення їх мікроскопії. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення.

До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. В мокротинні хворого виявлені дрібні попарно розташовані коки, оточені капсулою. Які з перерахованих мікроорганізмів мають такі морфологічні властивості?

- A. *Staphylococcus pyogenes*
- B. *Staphylococcus aureus*
- C. *Staphylococcus epidermidis*
- D. *Streptococcus pneumoniae*
- E. *Staphylococcus saprophyticus*

2. Змиви із слизової оболонки ротової порожнини хворого на хронічний стоматит направили до бактеріологічної лабораторії. У мікропрепараті були виявлені диплококи, оточені капсулою. Який з перерахованих методів забарвлення використаний для виявлення капсули при бактеріоскопічному дослідженні мазків?

- A. За Буррі-Гінсом
- B. За Леффлером
- C. За Буррі
- D. За Ожежко
- E. За Романовським-Гімзою

3. Під час мікробіологічного дослідження виявили нерухомі стрептобацили, які здатні утворювати капсулу. Як називаються такі мікроорганізми?

- A. *Bacillus subtilis*
- B. *Staphylococcus aureus*
- C. *Bacillus anthracis*
- D. *Bacillus anthracis*
- E. *Bacillus megaterium*

4. За останні роки виявлений новий вигляд клебсієл, які поки що мало відомі, їх роль в патології людини уточнюється. Який з перерахованих видів мікроорганізмів є достатньо вивчений?

- A. *K. oxytoca*
- B. *K. mobilis*
- C. *K. pneumoniae*
- D. *K. planticola*
- E. *K. terrigena*

5. Територію старого скотомогильника, який не використовувався більше 50 років, планується відвести під житлове будівництво. Проте, дослідження ґрунту показало наявність життєздатних спор збудника особли-

вонебезпечного захворювання. Який з названих мікроорганізмів найімовірніше міг зберігатися в ґрунті впродовж такого тривалого часу?

- A. *Yersinia pestis*
- B. *Francisella tularensis*
- C. *Brucella abortus*
- D. *Bacillus anthracis*
- E. *Mycobacterium bovis*

6. Хворий 34 років звернувся з приводу карбункула на обличчі. Під час огляду виявлений нещільний, безболісний набряк підшкірної жирової клітковини, в центрі карбункула – чорний струп, по периферії – висипання везикул. Під час мікробіологічного дослідження виявили нерухливі стрептобацили, здатні утворювати капсули. Які мікроорганізми є збудниками цього захворювання?

- A. *Bacillus anthracis*
- B. *Staphylococcus aureus*
- C. *Bacillus anthracoides*
- D. *Bacillus subtilis*
- E. *Bacillus megaterium*

7. При постановці біологічної проби в мазках-відбитках з органів тварин виявили стрептобактерії, оточені капсулою. Це дає підставу встановити діагноз:

- A. Туляремія
- B. Сибірська виразка
- C. Чума
- D. Бруцельоз
- E. Крупозна пневмонія

8. Під час мікроскопії мокроти хворого, з попереднім діагнозом «гостра пневмонія», виявлено хаотично розташовані мікроорганізми, овоїдної форми, інтенсивно забарвлені на полюсах, оточені капсулою. Який найбільш імовірний збудник викликав цю хворобу?

- A. *E. coli*
- B. *C. diphtheriae*
- C. *Streptococcus*
- D. *Staphylococcus*
- E. *Yersinia pestis*

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Приготування мазків з культури *K. pneumoniae*.
2. Фіксація мазків полум'ям.
3. Фарбування мікропрепаратів за методом Буррі-Гінса.
4. Мікроскопія мазків за допомогою імерсійного мікроскопа.
5. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів, забарвлених за методом Буррі-Гінса, метиленовою синькою.
6. Зарисовка препаратів в протокол.
7. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: Морфологія найпростіших.

Мета: Вивчення морфології патогенних найпростіших у препаратах з патологічного матеріалу.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунитет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокариотів та паразитичних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 6. Морфологія найпростіших.

Актуальність теми. Найпростіші (Protozoa) – це еукаріотичні одноклітинні організми, що мають мікроскопічний розмір. Патогенні для людини найпростіші належать до різних класів: саркодові (дизентерійна амеба), джугікові (лейшманії, лямблії, трихомонади, трипаносоми), споровики (токсоплазма, малярійні плазмодії), війчасті (балантидії).

Найпростіші широко розповсюджені в природі. Це пов'язано із здатністю найпростіших до швидкого розмноження, їх маленьким розміром, а також тим, що у несприятливих умовах більшість з них утворює цисти, які здатні переносити зміни температури, вологості, тощо. Для найпростіших характерна наявність складного життєвого циклу, що супроводжується іноді зміною господаря, як, наприклад, у збудника малярії (комар-людина) або токсоплазмозу (кішка-людина).

Найпростіші мають органи руху (джугітики, вії, псевдоподії), харчування (вакуолі), також можливе харчування в результаті фагоцитозу. Розмножуються вони кількома способами: простим й множинним поділом, статевим шляхом, утворенням цист. Поверхня тіла найпростіших покрита клітинною мембраною. У більшості з них є зовнішня еластична оболонка – пелікула, яка відіграє захисну роль. Для проникнення в клітину господаря найпростіші мають спеціальні пристрої, наприклад, у токсоплазм є складний комплекс органел – коноїд з фібрилами, трихомонади і лямблії мають спеціальні присоски.

Для виявлення найпростіших використовується мікроскопія нативних і забарвлених препаратів із досліджуваного матеріалу в імерсійному, фазово-контрастному або люмінесцентному мікроскопах. Для детального вивчення ультраструктури використовується електронна мікроскопія.

При мікроскопії препаратів слід враховувати, що кожен із представників найпростіших має ряд морфологічних особливостей, що залежать не лише від виду, а й від стадії розвитку паразита. Хвороби, які викликають

найпростіші, називаються протозойними. До них належать: малярія, лейшманіоз, токсоплазмоз, амебіаз, лямбліоз та інші.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитись із класифікацією патогенних найпростіших.
2. Розібрати та вивчити схеми життєвих циклів патогенних найпростіших.
3. Тракувати морфологічні ознаки кожного виду.
4. Робити висновки щодо морфологічних форм найпростіших.
5. Тракувати и аналізувати результати мікроскопічного дослідження патогенних найпростіших.

Уміти:

1. Проводити мікроскопію препаратів патогенних найпростіших, що забарвлені за Романовським-Гімзою.
2. Аналізувати морфологічні ознаки патогенних найпростіших.

Теоретичні питання:

1. Класифікація найпростіших.
2. Структура клітин найпростіших (еукаріотів).
3. Порівняльна структура клітин прокаріотів та еукаріотів.
4. Методи фарбування найпростіших.
5. Можливість дослідження нативних препаратів для діагностики протозойних інфекцій.
6. Пріоритет вітчизняних вчених у вивченні деяких протозойних інфекцій. Роботи В.А. Леша, Є.І. Марциновського, П.Ф. Боровського.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів патогенних найпростіших, забарвлених за Романовським-Гімзою.
2. Замалювання демонстраційних препаратів та схем життєвих циклів патогенних найпростіших у протокол.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / Учебник для медицинских ВУЗов, Санкт-Петербург «Специальная литература», 1998.–592 с.
2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Вища школа, 1992. – 431с.
3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского. – М.:ГЭОТАР-МЕД,2001.-768с.
4. Циганенко А.Я., Павленко Н.В. Мікробіологія, вірусологія та імунологія /Керівництво до практичних занять для студентів медичних та фармацевтичних ВУЗів, Харків, ХДМУ, 1996. – 272с.
5. Конспект лекції.

Додаткова література:

1. Казанцев А.П. Токсоплазмоз. - М.: Медицина, 1985. - 168 с.
2. Епідеміологія. / За ред. Синяк К.М. - К.: Здоров'я, 1993. - 460с.
3. Иммунология инфекционного процесса. / Под ред. Покровского В.И., Гордиенко С.П., Литвинова В.И. - М.: Медицина, 1993. - 305 с.
4. Лобан К.М., Полозок Е.С. Малярия. – М.: Медицина, 1983. - 224с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із вивчення класифікації найпростіших, розбіру схем життєвих циклів найпростіших, що є патогенними для людини. Потім студенти проводять мікроскопію демонстраційних препаратів та замальовують їх у протокол заняття.

Наприкінці заняття проводиться тестовий контроль та аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У вагітної жінки в мазках крові при мікроскопії були виявлені токсоплазми. Які з перелічених нижче морфологічних ознак має цей збудник в мазках, забарвлених за Романовським – Гімзою?

А. Клітини у формі півмісяця з 1 рубіновим ядром та блакитною цитоплазмою

В. Округлі клітини з червоним ядром, блакитною цитоплазмою, 5 рожевими джгутиками та аксостилем

С. Подовжені клітини з 1 джутиком, 1 ядром й ундулюючою мембраною

Д. Клітини грушоподібної форми з 2 ядрами й 4 парами джутиків

Е. Великі клітини з 1 ядром, псевдоподіями й еритроцитами

2. У хворого зі скаргами на часті рідкі випорожнення й схваткоподібний біль в животі в баклабораторії було знайдено *Entamoeba histolytica*. Яка з перелічених морфологічних форм характерна для цього збудника в мазках із випорожнень?

А. Округлі клітини з 1 ядром та кінетопластом

В. Округлі клітини з червоним ядром, блакитною цитоплазмою, 5 рожевими джгутиками та аксостилем

С. Подовжені клітини з 1 джутиком, 1 ядром й ундулюючою мембраною

Д. Клітини грушоподібної форми з 2 ядрами й 4 парами джутиків

Е. Великі клітини з 1 ядром, псевдоподіями й поглиненими еритроцитами

3. У лікарню поступив хворий, якому був поставлений попередній діагноз: малярія, що викликана *P. ovale*. Які з перелічених морфологічних

ознак має цей збудник в стадії кільця у мазках, забарвлених за Романовським - Гімзою?

А. У збільшених еритроцитах – кільцеподібні трофозоїти й зерна Шюффера

В. У збільшених овальних еритроцитах – вакуолі, оточені блакитною цитоплазмою з рубіновими великими ядрами й крупні зерна Джеймса

С. В еритроцитах 2-3 дрібних трофозоїта й поодинокі рожево-фіолетові зерна Мауера

Д. Округлі клітини з червоним ядром, блакитною цитоплазмою, 5 рожевими джгутиками та аксостилем

Е. Округлі клітини з 1 ядром та кінетопластом

4. До лікаря звернувся чоловік 35 років з виразкою на носі. З анамнезу відомо, що пацієнт 2 тижні тому повернувся з Африки. При мікроскопічному дослідженні мазків раньового виділення виразки, забарвлених за Романовським-Гімзою, було виявлено внутрішньоклітинне розташування дрібних клітин овальної форми без джгутиків з сірувато-блакитною цитоплазмою і червоно-фіолетовим ядром. Для якого збудника характерна така морфологічна форма?

А. *Plasmodium malariae* В. *Leishmania tropica* С. *Toxoplasma gondii*

Д. *Trichomonas vaginalis* Е. *Giardia lamblia*

5. При мікроскопічному дослідженні випорожнень хворого зі скаргами на здуття живота, втрату апетиту, рідкі випорожнення було виявлено клітини грушоподібної форми із симетрично розташованими 2 ядрами, 2 базальними тільцями, 2 нитками аксостилів й 4 парами джгутиків. Для якого найпростішого характерна така морфологічна форма?

А. *Plasmodium malariae* В. *Leishmania tropica* С. *Toxoplasma gondii*

Д. *Trichomonas vaginalis* Е. *Giardia lamblia*

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Знайомство з класифікацією найпростіших.
2. Вивчення морфології найпростіших за схемами, таблицями та у демонстраційних препаратах.
3. Розбір схеми життєвого циклу малярійних плазмодіїв.
4. Розбір схеми життєвого циклу трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм.
5. Мікроскопія та аналіз демонстраційних препаратів найпростіших.
6. Замальовання демонстраційних препаратів та схем життєвих циклів найпростіших.
7. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 7

Тема: Морфологія рикетсій, хламідій і мікоплазм.
**Мета: Вивчити морфологію і методи виявлення рикетсій,
хламідій і мікоплазм.**

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 1. Морфологія і структура прокаріотів і паразитарних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 7. Морфологія рикетсій, хламідій і мікоплазм.

Актуальність теми. На території країн СНД спостерігаються наступні рикетсіози: висипний тиф (зокрема хвороба Бриля), шурячий тиф, марсельська лихоманка, кліщовий висипний тиф Північної Азії, везикульозний рикетсіоз, Ку-лихоманка, лихоманка цуцугамуши, волинська лихоманка. Є природні вогнища везикульозного рикетсіозу, марсельської лихоманки, лихоманки цуцугамуши і кліщового висипного тифу Північної Азії, що активно діють.

Епідемічний висипний тиф – це системна інфекція з гострим перебігом, з важкою інтоксикацією, швидким епідемічним розповсюдженням, що дає до 30 % летальних результатів.

Лабораторна діагностика багатьох рикетсіозів ґрунтується на виділенні збудника з крові хворих. У зв'язку з цим необхідно знати морфологію рикетсій і методи їх забарвлення для розпізнавання їх під мікроскопом.

Рикетсії – група дрібних поліморфних грамнегативних бактерій, що є паразитами членистоногих, різних тварин і людини.

Назву цій групі мікроорганізмів дав в 1916 р. Роха-Ліма, що запропонував назвати збудника висипного тифу *Rickettsia prowazekii* на честь двох учених: американського – Г.Т. Рікетса і чеського – С. Провачека, які першими його виявили (Г.Т. Рікетс в 1909 р., С. Провачек в 1913 р.) при вивченні висипного тифу і, заразившись, загинули від нього.

Сімейство *Rickettsiaceae* складається з трьох триб: *Rickettsiae*, *Ehrlichiae*, *Wolbachiae*. Триба *Rickettsiae* ділиться на 4 роди: *Rickettsia*, *Rochalimaea*, *Coxiella*, *Ehrlichia*.

Будова рикетсій аналогічна будові інших бактерій; у рикетсій виділяють оболонку, протоплазму і зернисті включення. Ядерна структура представлена зернятками ДНК і РНК. Для мікроорганізмів, особливо рикетсій висипного тифу, характерний поліморфізм. За П.Ф. Здродовським виділяють наступні типи: кокоподібні, паличкоподібні, подовжені ниткоподібні. Розмножуються рикетсії подібно до бактерій шляхом поперечного

ділення, але ним властивий внутрішньоклітинний паразитизм. Таким чином, вони займають проміжне положення між бактеріями і вірусами. Виявляють рикетсії за допомогою спеціальних методів забарвлення: за Здродовським, Романовським-Гімзою. Патогенні представники рикетсій – рикетсія Провачека, *R. typhi*, *R. sonorii*.

Хламідії – унікальна група дрібних патогенних грамнегативних нерухливих бактерій, що є збудниками різних хвороб людини і тварин. У людей вони викликають захворювання очей, сечостатевої і дихальної систем. Щорічно на трахому хворіють від 400 до 500 млн. чоловік, з них понад 10 млн. стають сліпими. Уретритами хламідійної етіології страждають до 6 % чоловіків; 10-12 % жінок дітородного віку, у 50 % яких при пологах відбувається інфікування дитини і розвивається офтальмія і пневмонія новонароджених.

Хламідії – облігатні внутрішньоклітинні організми прокаріотної системи. Мають сферичну форму, РНК і ДНК, рибосоми, клітинні стінки за будовою схожі із стінками грамнегативних бактерій, але позбавлені пептидогліканів; добре фарбуються за Романовським-Гімзою.

Хламідії розмножуються бінарним діленням тільки в цитоплазмі еукаріотних клітин за унікальним циклом розвитку.

Життєвий цикл хламідій представлений двома основними формами, що змінюють одна одну – ретикулярні тільця (вегетативна форма) і елементарні тільця (спороподібна форма).

Елементарні тільця (ЕТ) – інфекційна позаклітинна форма. Вони забезпечують передачу захворювання від людини (тварини) до людини. Ретикулярне тільце (РТ) – внутрішньоклітинна форма, розвивається з ЕТ, що потрапило в цитоплазму. Після утворення РТ хламідійна клітина бінарно ділиться, утворюються тільця включення у вигляді вакуолей в цитоплазмі. Тільця включення прилягають до ядра клітини і їх можна виявити в імерсійному мікроскопі при забарвленні, що використовується для діагностики хламідіозів.

Для людини патогенні наступні представники роду *Chlamydia*: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*.

Класифікація хламідій.

Сімейство *Chlamydiaceae*:

1. Рід *Chlamydia*: *C. trachomatis*, *C. suis*, *C. muridarum*;

2. Рід *Chlamydophila*: *C. pneumoniae*, *C. abortus*, *C. pecorum*, *C. psittaci*, *C. caviae*, *C. felis*.

Бактеріологічна діагностика хламідіозів складається з попереднього мікроскопічного дослідження матеріалу з метою виявлення хламідій в інфікованих клітинах, забарвлених за Романовським-Гімзою.

Багато видів мікоплазм патогенні для людини, і викликають ураження дихальних шляхів, суглобів, серця, сечостатевої і нервової систем.

30-60 % уретритів негонококової етіології викликано *M. hominis*. Існує думка, що уреоплазменная інфекція може бути причиною як жіночого так і чоловічого безпліддя. Крім того, *M. hominis* при внутрішньоутробному зараженні плоду може бути причиною природжених аномалій розвитку дитини у зв'язку з її здатністю впливати на хромосоми клітини.

Лабораторна діагностика не грає вирішальної ролі в розпізнаванні мікоплазменної пневмонії. Широко використовується виділення чистої культури збудника з подальшою ідентифікацією на підставі морфологічних, культуральних і ін. ознак.

Мікоплазми – вільноживучі прокаріоти, що не мають справжньої клітинної стінки і не здатні синтезувати її компоненти. Функції клітинної стінки виконує тришарова мембрана цитоплазми. Більшість видів представлені дрібними клітинами, що характеризуються вираженим плеоморфізмом, можуть утворювати коковидні, форми, що гілкуються, і крупніші багатоядерні форми, які здатні утворювати псевдоміцелій. Забарвлюються за Романовським-Гімзою.

Від людини виділяють представників роду *Mycoplasma* та *Ureaplasma*, що включають патогенні і сапрофітні види.

Класифікація мікоплазм.

Сімейство *Mycoplasmaceae*:

1. Рід *Mycoplasma*: *M. buccale*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. orale*, *M. salivarium*;
2. Рід *Ureaplasma*: *Ureaplasma urealyticum*.

Для людини патогенні *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *Ureaplasma urealyticum*.

Конкретні цілі:

1. Звернути увагу студентів на те, що рикетсії і хламідії займають проміжне положення між бактеріями і вірусами. З бактеріями їх об'єднує ультраструктура клітини, а з вірусами внутрішньоклітинний паразитизм.

2. Вивчити ультраструктуру і морфологію рикетсій, методи їх забарвлення.

3. Вивчити морфологію хламідій і методи їх забарвлення. Описати і замалювати життєвий цикл хламідій.

4. Вивчити ультраструктуру і морфологію мікоплазм. Привернути увагу на відсутність у них клітинної стінки. Освоїти методи забарвлення мікоплазм.

Уміти:

1. Описувати забарвлені мікропрепарати, приготовані з мікоплазм.

2. Мікроскопіювати, описувати і трактувати забарвлені мікропрепарати, приготовані з матеріалу, де містяться рикетсії, цитоплазматичні включення хламідій.

3. Аналізувати результати мікроскопічного дослідження матеріала, де містяться рикетсії, хламідії, мікоплазми.

Теоретичні питання:

1. Таксономія рикетсій.
2. Морфологія рикетсій, їх класифікація за формою.
3. Методи забарвлення рикетсій
4. Представники рикетсій, патогенні для людини.
5. Таксономія хламідій, їх класифікація, патогенні представники.
6. Біологічна особливість хламідій. Основні стадії життєвого циклу хламідій.
7. Морфологія хламідій, ретикулярні тільця, елементарні тільця.
8. Методи виявлення включень хламідій у цитоплазмі. Практичне використання тілець-включень.
9. Таксономія мікоплазм. Класифікація, патогенні представники.
10. Ультраструктура і морфологія мікоплазм.
11. Методи забарвлення мікоплазм.
12. Представники мікоплазм, патогенні для людини.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопіювати демонстраційний препарат, приготований з чистої культури мікоплазм і забарвлений за Романовським-Гімзою.
2. Мікроскопіювати забарвлені за Здродовським і Романовським-Гімзою мазки з матеріалу, що містить рикетсії.
3. Мікроскопіювати мазок, приготований з зіскоба уретри і забарвлений за Романовським-Гімзою, з метою виявлення включень в цитоплазмі клітин епітелію уретри.
4. Замалювати демонстраційні препарати в протокол.
5. Замалювати в протокол життєвий цикл хламідій.
6. Оформити протокол.

Література:

1. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691 с.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів по даній темі.

Самостійна робота складається з вивчення морфології і ультраструктури рикетсій, хламідій і мікоплазм за навчальними таблицями.

Студенти проглядають забарвлені демонстраційні препарати в імерсійному мікроскопі, замальовують їх в протокол, указуючи латинську назву мікроорганізму і метод забарвлення.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання.

1. З плевральної рідини хворого на атипову пневмонію виділений збудник, який відрізняється поліморфізмом, забарвлюється за Романовським-Гімзою. Який з перерахованих мікроорганізмів, найімовірніше, викликав атипову пневмонію.

A. *Mycoplasma pneumoniae*

B. *Mycoplasma fermentans*

C. *Mycoplasma orale*

D. *C. trachomatis*

E. *Rickettsia prowazekii*

2. У шкірно-венерологічний диспансер поступив хворий з діагнозом «негонококовий уретрит». Який з перерахованих мікроорганізмів є збудником даного захворювання.

A. *Ureaplasma urealyticum*

B. *Mycoplasma pneumoniae*

C. *Mycoplasma fermentans*

D. *Mycoplasma orale*

E. Всі відповіді вірні

3. У мазці-зіскобі з уретри хворого при забарвленні за Романовським-Гімзою виявлені включення у вигляді шапочки поблизу ядра. Який з перерахованих збудників може викликати подібні утворення в клітинах призматичного епітелію уретри.

A. *Chlamydia trachomatis*

B. *Chlamydia pneumoniae*

C. *Chlamydia psittaci*

D. *Ureaplasma urealyticum*

E. *Trichomonas vaginalis*

4. Через 5 днів після купання в басейні у купальщика виявили захворювання ока, що виражається потовщенням кон'юнктиви і яскраво-червоним забарвленням нижньої повіки. У мазку, приготованому з виділень із кон'юнктиви ока, виявили включення в уражених клітинах. Який збудник викликав у купальщика кон'юнктивіт з включеннями.

A. *Chlamydia trachomatis*

C. Стафілокок

E. Аденовіруси

B. *Chlamydia pneumoniae*

D. Гонокок

5. У працівників зоопарку, що доглядають за папугами, виникла атипова пневмонія. Який збудник з'явився причиною даного захворювання.

A. *Chlamydia psittaci*

C. *Chlamydia trachomatis*

E. *Mycoplasma hominis*

B. *Mycoplasma pneumoniae*

D. *Ureaplasma urealyticum*

6. У водія дальніх рейсів лікар запідозрив висипний тиф і узяв кров для лабораторної діагностики висипного тифу. Як називається збудник висипного тифу.

A. *Treponema pallidum*

C. *Mycoplasma pneumoniae*

E. *Coxiella burnetii*

B. *Borrelia recurrentis*

D. *Rickettsia prowazekii*

7. Завод бакпрепаратів отримав заявку на виготовлення вакцин з облигатних внутрішньоклітинних паразитів. Який з перерахованих збудників відноситься до таких?

A. Рикетсії

C. Мікоплазми

E. Спірили

B. Спирохети

D. Вібріони

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчити за таблицями морфологію і ультраструктуру рикетсій.
2. Вивчити техніку забарвлення рикетсій за Здродовським.
3. Мікроскопіювати готові препарати з матеріалу, забарвленого за Здродовським, що містить рикетсії.
4. Вивчити за таблицею і замалювати цикл розвитку хламідій.
5. Мікроскопіювати забарвлений за Романовським-Гімзою мазок-зіскоб з уретри хворого з включеннями *C. trachomatis*.
6. Вивчити за таблицею структуру мікоплазм.
7. Мікроскопіювати готовий мазок з культури мікоплазм, забарвлений за Романовським-Гімзою.
8. Проаналізувати демонстраційні препарати.
9. Замалювати демонстраційні мікропрепарати в протокол. Оформити протокол.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 8

**Тема заняття: Морфологія вірусів людини та бактеріофагів.
Мета: Вивчення морфології вірусів та бактеріофагів.**

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовий модуль 1. Морфологія і структура прокаріотів і паразитарних одноклітинних еукаріотів.

Тема заняття 8. Морфологія вірусів людини та бактеріофагів.

Актуальність теми. Віруси займають особливе положення на Землі. Це неклітинна форма, життєві процеси якої відбуваються на молекулярному рівні. Вони не мають клітинної будови й використовують рибосоми господаря (людини, тварини, бактерій, грибів, рослин) для синтезу власних протеїнів. Разом з тим, віруси мають власну генетичну інформацію, яку вони можуть передавати потомству. Основні властивості вірусів: ультрамікроскопічні розміри, містять нуклеїнову кислоту тільки одного типу – або ДНК, або РНК, не здатні до росту і бінарного поділу, розмножуються шляхом відтворення себе з власної геномної нуклеїнової кислоти, у вірусів відсутні власні системи мобілізації енергії й білоксинтезуюча система, віруси є абсолютними внутрішньоклітинними паразитами. Віріон - це позаклітинна форма існування вірусу, що містить у своєму складі одну з нуклеїнових кислот (ДНК чи РНК), що є геномом цих мікроорганізмів. Нуклеїнова кислота, оточена білковою оболонкою, складає інфекційну одиницю чи віріон. Розміри віріонів різних вірусів коливаються у широких межах - від 15 до 500 нм. Вони можуть мати різноманітну форму: паличкоподібну, ниткоподібну, сферичну, кубоподібну. У процесі репродукції синтезується нуклеїнова кислота і структурні білки. Структурні білки утворюють капсид, що захищає нуклеїнову кислоту від зовнішніх впливів, а також сприяє прикріпленню вірусної частки до чутливої клітини.

За допомогою електронного мікроскопа встановлено, що прості віріони складаються з нуклеїнової кислоти, щільно упакованої в білкову оболонку - капсид, що має суворо упорядковану структуру. За морфологічною структурою нуклеїнова кислота і капсид являють собою нуклеокапсид, а за хімічними властивостями - це нуклеопротеїди. У деяких вірусів (аденовіруси, пікорнавіруси, паповавіруси) нуклеокапсид складається з капсомерів, що є скупченням поліпептидів. Багато складно організованих віріонів має ще і зовнішню оболонку (суперкапсид), у якій містяться ліпіди і вуглеводи клітини хазяїна. Суперкапсид - оболонка, що оточує нуклеокапсид, є у багатьох вірусів (міксовіруси, герпесвіруси та ін.). У залеж-

ності від порядку розташування капсомерів розрізняють віруси з трьома типами симетрії: спіральним, кубічним, змішаним.

Морфологію і структуру вірусів вивчають за допомогою електронного мікроскопа. Крім повноцінних віріонів зустрічаються дефектні віруси і псевдовіріони. Дефектний вірус - це вірус, що функціонально неповноцінний на деяких етапах репродукції. Псевдовіріони - це віруси, у капсид яких укладено нуклеїнову кислоту клітини хазяїна, а не вірусну нуклеїнову кислоту.

Бактеріофаги - це віруси бактерій, що викликають їх лізис. Лізис бактеріальних клітин уперше знайшов у 1898 р. російський мікробіолог М.Ф.Гамалея. Віруси, що уражують мікроорганізми, назвали фагами. Фаги розрізняються за морфологією, типом нуклеїнової кислоти, за хімічною структурою і характером взаємодії з мікробною клітиною. Наприклад, фаги кишкової палички складаються з голівки, комірця, хвостового відростка, базальної пластинки з короткими шипами і хвостовими нитками. Голівка фага, діаметр якої коливається в межах 60-90 нм, має шестикутну форму. Усередині голівки міститься нуклеїнова кислота, оточена білковою оболонкою. Хвостовий відросток фага складається з порожнього циліндричного стрижня, оточеного скорочувальним чохлам. Хвостовий відросток досягає 250 нм у довжину і 30 нм у ширину. Базальна пластинка має шестикутну форму. Від неї відходять шість шипів і шість хвостових ниток (фібрил). Хвостовий відросток забезпечує прикріплення фага до мікробної клітини.

Існують фаги й іншої будови: з довгим відростком і чохлам, що не скорочується, з коротким відростком, без відростка. Фаги мають сувору специфічність і уражають лише певні види мікроорганізмів. Розрізняють моновалентні фаги, які лізують мікробні клітини визначеного виду, і полівалентні фаги, здатні викликати лізис групи споріднених видів мікроорганізмів. На підставі специфічності фаги широко використовуються для ідентифікації мікроорганізмів та застосовуються у терапії деяких захворювань.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитись із класифікацією вірусів та бактеріофагів.
2. Розібрати та вивчити схеми репродукції вірусів та бактеріофагів.
3. Навчитись трактувати морфологічні ознаки кожної родини.
4. Зробити висновки щодо морфологічних ознак вірусів.
4. Навчитись трактувати и аналізувати результати мікроскопічного дослідження ЦПД вірусів.

Уміти:

1. Проводити мікроскопію препаратів з цитопатичною дією вірусів за допомогою імерсійного мікроскопу.

2. Аналізувати морфологічні ознаки вірусів.

Теоретичні питання:

1. Біологічні особливості вірусів.
2. Морфологія та ультраструктура вірусів (з вказівкою специфічних термінів).
3. Електронний мікроскоп. Принцип будови.
4. Методи непрямого виявлення присутності вірусів у організмі.
5. Методи виявлення вірусів у досліджуваному матеріалі з використанням імерсійної люмінесцентної мікроскопії.
6. Поняття про люмінесцентний мікроскоп.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів цитопатичної дії вірусів.
2. Замалювання демонстраційних препаратів та схем репродукції вірусів у протокол.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология /Учебник для медицинских ВУЗов, Санкт–Петербург «Специальная литература», 1998. – 592 с.
2. Тимаков В.Д., Левашев В.С., Борисов Л.Б. Микробиология /Учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1983, – 512 с.
3. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Вища школа, 1992. – 431 с.
4. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского. – М.:ГЕОТАР-МЕД,2001. – 768 с.
5. Циганенко А.Я., Павленко Н.В. Мікробіологія, вірусологія та імунологія /Керівництво до практичних занять для студентів медичних та фармацевтичних ВУЗів, Харків, ХДМУ, 1996. – 272с.
6. Балаклієць Н.І, Циганенко А.Я., Мінухін В.В. Загальна мікробіологія: Навчальний посібник для студентів мед. і фарм. ВУЗів //За редакцією А.Я. Циганенка. – Х.: Основа, 2002. – 248 с.

Додаткова література:

1. Букринская А.Г., Жданов В.М. Молекулярные основы патогенности вирусов. - М.: Медицина, 1991. – 255 с.
2. Посібник з медичної вірусології/ Під редакцією Гиріна В.М. - К.: Здоров'я, 1995. – 368 с.
3. Вирусология в 3-х томах / Под редакцией Филдса Б. и др. - М.: Мир, 1989. – 494 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із вивчення класифікації вірусів, розбіру схем реплікації вірусів й бактеріофагів. Потім студенти проводять мікроскопію демонстраційних препаратів з цитопатичною дією вірусів та їх замалювання у протокол заняття.

Наприкінці заняття проводиться тестовий контроль та аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У хлопчика віком два роки, що потрапив до лікарні з високою температурою, висипом на шкірі і запаленням лімфовузлів, із крові виділено вірус краснухи. До якої із наведених родин належить цей вірус?

- A. Тогавіруси
- B. Пікорнавіруси
- C. Рабдовіруси
- D. Параміксовіруси
- E. Гепадновіруси

2. Від хворого на гострий кератокон'юктивіт у вірусологічній лабораторії було виділено аденовірус. Яку із наведених форм має цей вірус?

- A. Сферичну
- B. Паличкоподібну
- C. Ікосаедр
- D. Сперматозоїдну
- E. Ниткоподібну

3. Для специфічної профілактики сказу застосовуються вакцини. З ім'ям якого із перелічених вчених пов'язано створення першої вакцини проти сказу?

- A. Мечников
- B. Пастер
- C. Дженер
- D. Фермі
- E. Ерліх

4. Які з перелічених вірусів мають нуклеокапсид зі спіральним типом симетрії?

- A. Ентеровіруси, віруси гепатиту А
- B. Віруси сказу, грипу, паротиту
- C. Аденовіруси, реовіруси
- D. Віруси гепатиту А, кліщового енцефаліту
- E. Ентеровіруси, герпесвіруси

5. Які процеси лежать в основі мінливості вірусів?

- A. Інтерференція вірусів
- B. Мутації в геномах та геномні рекомбінації
- C. Екзальтація вірусів
- D. Трансформація і реплікація вірусів
- E. Фенотипічна мінливість

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Знайомство з класифікацією вірусів й бактеріофагів.
2. Вивчення молекулярно-генетичної організації й репродукції вірусів й бактеріофагів за схемами, таблицями, атласом.
3. Мікроскопія та аналіз демонстраційних препаратів з ЦПД вірусів.
4. Замалювання демонстраційних препаратів та схем репродукції вірусів.
5. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 9

Тема: Живлення бактерій. Прості живильні середовища. Посів на МПА і МПБ. Методи стерилізації.

Мета: Студенти повинні знати принципи культивування бактерій, особливості транспортування інфікованого матеріалу, методи стерилізації і дезинфекції.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 2. Фізіологія мікроорганізмів.

Тема заняття 9. Живлення бактерій. Прості живильні середовища. Посів на МПА і МПБ. Методи стерилізації.

Актуальність теми. Всім мікроорганізмам властивий безперервний обмін із навколишнім середовищем – метаболізм. Метаболізм складається з двох протилежних, але взаємозалежних процесів: асиміляція (анаболізм, конструктивний метаболізм); і дисиміляція (катаболізм, енергетичний метаболізм).

За типом живлення всі мікроорганізми розділяють на автотрофи і гетеротрофи.

Автотрофи – чисельна група вільно існуючих мікроорганізмів (бактерій, грибів, водоростей), основним (факультативні автотрофи) або єдиним (облігатні автотрофи) джерелом вуглецю або азоту для яких є неорганічні речовини.

Гетеротрофи – організми, які набувають вуглецю і азоту з органічних речовин.

За характером використання джерела енергії розрізняють три групи бактерій:

1. Фототрофи – як джерело енергії використовують сонячне світло;
2. Літотрофи – неорганічний вуглець;
3. Органотрофи – органічний вуглець (вуглеводи, жирні кислоти).

Найважливіші об'єкти для медичної мікробіології – хемоорганотрофи, їх розділяють на сапрофіти і паразити.

Сапрофіти в процесі своєї життєдіяльності використовують органічні речовини, які є в навколишньому середовищі.

Паразити харчуються за рахунок органічних сполук тварин і людини.

Прототрофи – синтезують всі сполуки з глюкози і солей амонія.

Ауксотрофи додатково потребують спеціальних речовин – чинників зростання.

Поглинання бактеріями, грибами, водоростями живильних речовин, здійснюється гідрофільно (живильні речовини повинні бути в розчинному вигляді) завдяки:

1. Пасивній дифузії,
2. Полегшеній дифузії,
3. Активному транспорту (за участю спеціальних ферментів – пермеаз),
4. Транслокацією хімічних груп.

У лабораторних умовах бактерії вирощують на живильних середовищах. Живильні середовища повинні імітувати природні умови, в яких знаходяться мікроорганізми, і містити:

1. Джерело енергії,
2. Джерело вуглецю,
3. Джерело азоту,
4. Солі (сульфати, фосфати, хлориди та інші),
5. Чинники зростання (триптофан для *S.typhi*, глутатіон для гонококів),
6. Мати рН 7,2-7,6,
7. Бути стерильними.

Живильні середовища розділяють на чотири основні групи:

1. Універсальні (МПА, МПБ) – містять живильні речовини, у присутності яких ростуть багато видів патогенних бактерій.
2. Спеціальні – застосовують для вирощування бактерій, які не розмножуються на універсальних середовищах (кров'яний агар, сироватковий бульйон, сироватковий агар і ін.)
3. Вибіркові (елективні) – характеризуються тим, що на них добре розвиваються тільки певні види бактерій і погано або зовсім не ростуть інші види (лужна пептонна вода – для холерного вібріона). Живильні середовища, які містять певні концентрації антибіотиків, елективні для стійких до цих антибіотиків штамів і разом з тим селективні для антибіотикочутливих культур.
4. Диференціально-діагностичні середовища (Гіса, Ендо, Плоскирева).

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон.

МПА – м'ясо-пептонний агар.

Пептон – білок, частково переварений пепсином або трипсином.

Агар-агар – комплексні полісахариди, які виділено з водоростей. Розріджуються при температурі 80-100 °С, ущільнюються при температурі 35-42 °С.

Стерилізація – процес, який супроводжується руйнуванням всіх видів мікроорганізмів, включаючи спори і віруси.

Дезинфекція – процес руйнування патогенних мікроорганізмів, які можуть викликати інфекцію.

Стерилізація може здійснюватися двома методами:

1. Фізичний (сонячне випромінювання, сухий жар, пара, фільтрування, вплив радіаційного випромінювання, ультразвука).

2. Хімічний (кислоти, луки, галогени, редуруючі агенти, формальдегід, фенол, мила, фарби і ін.)

Конкретні цілі:

1. Студенти повинні знати хімічний склад бактерій, і як він впливає на потреби бактерій в живильних речовинах.

2. Студенти повинні знати класифікацію бактерій за типом живлення і класифікацію живильних середовищ.

3. Студенти повинні привести склад МПБ і МПА і знати техніку посіву бактерій на ці живильні середовища.

4. Студенти повинні продемонструвати фундаментальні знання методів стерилізації і дезинфекції, і оцінити їх роль у попередженні інфекційних хвороб і гнійно-септичних ускладнень.

Студенти повинні уміти:

1. Приготувати мазки з чистих культур *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. anthracoides* і фарбувати їх за Грамом.

2. Мікроскопіювати мазки, забарвлені за Грамом, користуючись імерсійним мікроскопом.

3. Сіяти чисті культури *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. anthracoides* на живильні середовища МПБ і МПА.

Теоретичні питання:

1. Метаболізм мікроорганізмів: анаболізм, катаболізм.

2. Хімічна будова бактеріальної клітини: органічні і неорганічні складові.

3. Потреби бактерій в живильних речовинах: водород, кисень, вуглець, азот, органічні чинники зростання.

4. Класифікація бактерій на підставі джерел для конструктивного і енергетичного метаболізму.

5. Класифікація живильних середовищ.

6. Склад універсальних живильних середовищ.

7. Методи стерилізації і дезинфекції.

Практичні завдання, які виконують на занятті:

1. Мікроскопіювати демонстраційні препарати *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. anthracoides*.

2. Приготувати мазки з чистих культур *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. anthracoides*.

3. Пофарбувати і промікроскопіювати приготовані мазки.

4. Порівняти приготовані препарати з демонстраційними, описати їх і ідентифікувати.

5. Пересіяти чисті культури *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. anthracoides* на МПБ або МПА.

6. Замалювати всі препарати.

7. Оформити протокол практичного заняття.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Мікробіологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691 с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку практичного заняття викладач перевіряє рівень підготовки студентів, використовуючи тести вхідного контролю.

Самостійна робота студентів складається з приготування мазків з чистих культур *E.coli*, *S.epidermidis*, *B.anthracooides* і забарвлення їх за Грамом. Студенти мікроскопують демонстраційні і власноручно приготовані препарати, замальовують їх в протокол.

Лабораторна робота завершується посівом чистих культур *E.coli*, *S.epidermidis*, *B.anthracooides* на МПБ і МПА.

Кожен студент оформляє протокол роботи.

В кінці практичного заняття викладач проводить початковий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Мікроорганізми, які здатні синтезувати всі сполуки з глюкози як єдиного джерела вуглецю і з солей амонія як єдиного джерела азоту:

А. Автотрофи

В. Прототрофи

С. Літотрофи

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 10

Тема: Виділення чистих культур аеробів. Елективні живильні середовища.

Мета: Студенти повинні знати принципи і методи виділення чистих культур аеробів, а також як визначити типи зростання на МПА і МПБ та властивості елективних і селективних живильних середовищ.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунитет.

Змістовний модуль 2. Фізіологія мікроорганізмів.

Тема заняття 10. Виділення чистих культур аеробів. Елективні живильні середовища.

Актуальність теми. Не завжди можливо поставити діагноз або ідентифікувати мікроорганізм-збудник інфекційної хвороби, використовуючи вивчення тільки морфологічних властивостей. Вельми важливо виділити збудник інфекційної хвороби в чистій культурі і ідентифікувати його.

У клінічній бактеріологічній лабораторії необхідно:

1. Виділити бактерії в чистій культурі;
2. Вивчити їх властивості;
3. Отримати достатньо бактерій для приготування антигенів і для інших досліджень;
4. Ідентифікувати виділені мікроорганізми, вивчаючи їх біохімічні, антигенні властивості і визначаючи чутливість їх до бактеріофагів (фаготипування) і бактеріоцинів;
5. Визначити чутливість виділених культур бактерій до антибіотиків;
6. Оцінити кількість збудників інфекції в інфікованому матеріалі;
7. Зберегти виділений штам бактерій.

Чистою культурою називають зосередження мікробів одного виду на живильному середовищі.

Існує декілька методів виділення чистої культури аеробів:

1. Фізичний (використання високої температури понад 80 °С – для виділення спороутворюючих бактерій).
2. Хімічний (використання лугів або кислот – для кислоторезистентних бактерій).
3. Біологічний (використання експериментальних тварини – для виділення бактерій-збудників зоонозних інфекцій).

4. Механічний (використовується для виділення практично всіх видів бактерій):

- а) за Дригальським або
- б) за Кохом

5. Використання вибіркового (елективних або селективних) живильних середовищ, на яких добре розвиваються тільки певні види бактерій і погано або зовсім не ростуть інші види.

Так, наприклад, лужна пептонна вода і лужний МПБ є елективними середовищами для холерного вібриона. Живильні середовища, що містять певні концентрації пеніциліну або інших антибіотиків, елективні для стійких до них штамів і разом з тим селективні для антибіотикочутливих культур.

Як правило, особливо якщо бактерії не мають властивостей, що дозволяють застосувати один із способів первинної обробки досліджуваного матеріалу, застосовують механічний метод роз'єднання особин суміші мікроорганізмів, роблячи посів на щільне живильне середовище для отримання ізольованих колоній кожного виду. Згідно методу Дригальського використовують 3 чашки Петрі з щільним живильним середовищем, на яких засівають шпателем або пастерівською петлею суміш поступово, не стерилізуючи, використовуючи всю поверхню чашки, для того, щоб отримати ізольовані колонії. Відповідно методу Коха суміш на перших етапах розводять в розплавленому і охолодженому щільному середовищі до потрібної концентрації, а потім заливають чашки Петрі, щоб також отримати ізольовані колонії. Колонії ретельно вивчають, відбирають потрібні і пересівають на МПА для отримання достатнього матеріалу.

Конкретні цілі:

- 1. Знати принципи і методи виділення чистої культури аеробів.
- 2. Знати склад і властивості елективних і селективних живильних середовищ.
- 3. Уміти ідентифікувати і описати типи росту чистих культур аеробів *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides*:
 - а) на МПБ
 - б) на МПА
- 4. Уміти посіяти суміш бактерій на чашку Петрі з МПА для отримання ізольованих колоній, використовуючи метод Дригальського.

Студенти повинні уміти:

- 1. Приготувати мазки з посівів чистих культур *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* на МПБ і МПА і офарбувати їх за Грамом.
- 2. Описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках із чистих культур.

3. Приготувати мазок із суміші бактерій, яка містить *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides*, і офарбувати за Грамом.

4. Описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках із суміші.

5. Посіяти суміш бактерій на щільне живильне середовище (МПА), використовуючи метод Дригальського для отримання ізольованих колоній кожного виду.

Теоретичні питання:

1. Бактеріологічний метод в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб.

2. Поняття: штам, колонія, чиста культура, елективне (селективне) живильне середовище.

3. Принципи і методи виділення чистої культури аеробів.

4. Склад і властивості елективних, селективних живильних середовищ.

5. Техніка посіву бактерій на рідкі і щільні живильні середовища.

6. Характер зростання бактерій на рідких і щільних живильних середовищах.

Практичні завдання, які виконують на занятті:

1. Промікрископіювати, описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в демонстраційних препаратах чистих культур і суміші.

2. Приготувати мазки з посівів *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* на МПБ і МПА.

3. Офарбувати мазки за Грамом.

4. Промікрископіювати, описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках із чистих культур.

5. Приготувати мазок із суміші бактерій, яка містить *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides*.

6. Офарбувати мазок із суміші бактерій за Грамом.

7. Промікрископіювати, описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках з їх суміші.

8. Посіяти суміш бактерій на чашку Петрі з МПА, використовуючи метод Дригальського.

9. Оформити протокол в альбомі, замальовуючи демонстраційні мікрослайди і препарати, які були приготовані студентами.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку практичного заняття викладач повинен перевірити рівень підготовки студентів до практичного заняття.

Самостійна робота студентів складається з приготування мазків з посівів чистих культур *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* на МПБ і МПА і забарвлення їх за Грамом. Студенти також готують мазки з суміші бактерій, яка містить *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides*.

Надалі студенти мікроскопують демонстраційні препарати чистих культур вказаних видів мікроорганізмів і їх суміші, а також препарати, які були приготовані самими студентами. Описують морфологічні і тинкторіальні властивості кожного виду, порівнюють препарати, які вони приготували, з демонстраційними і на цій підставі ідентифікують види мікробів.

Практична робота студентів закінчується виконанням посівів суміші 3-х видів мікроорганізмів на чашку Петрі з МПА, використовуючи метод Дригальського.

Кожен студент повинен замальовати всі мікропрепарати в альбом і оформити протокол практичного заняття.

В кінці практичного заняття викладач проводить початковий тестовий контроль і аналізує підсумкові результати самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Мікроорганізми, не здатні синтезувати які-небудь сполуки з глюкози і солей амонія, як єдиних джерел відповідно вуглецю і азоту, називаються:

- | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|
| A. Автотрофами | B. Прототрофами | C. Ауксотрофами |
| D. Літотрофами | E. Фототрофами | |

2. Транспорт живильних речовин в клітину, який здійснюється за участю пермеаз і вимагає витрати енергії, відноситься до:

- А. Пасивної дифузії
- В. Полегшеної дифузії
- С. Активному транспорту
- Д. Транслокації хімічних груп
- Е. Ні до одного з них

3. Після експозиції з мутагеном штам виявився позбавленим міжклітинної перегородки. Таке явище найімовірніше обумовлене токсичною дією на одну з наступних органел:

- А. Фагосому
- В. Лізосому
- С. Рібосому
- Д. Мезосому
- Е. Соматосому

4. В якій фазі росту бактерій присутня максимальна швидкість розмноження клітин і збільшення бактерійної популяції?

- А. Початкова стаціонарна фаза
- В. Лаг-фаза
- С. Лог-фаза
- Д. Фаза негативного прискорення
- Е. Стаціонарна фаза максимуму

5. В бактеріологічну лабораторію був доставлений матеріал від хворого на менінгококову інфекцію. Для виділення чистої культури менінгокока був використаний сироватковий агар, до якого з метою пригнічення зростання супутньої мікрофлори був доданий антибіотик ристоміцин. До якого типу живильних середовищ відноситься сироватковий агар з ристоміцином?

- А. Просте
- В. Елективне
- С. Основне
- Д. Диференційно-діагностичне
- Е. Транспортне

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Промікрископіювати, описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в демонстраційних препаратах чистих культур і суміші, забарвлених за Грамом.

2. Приготувати мазки з посівів *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* на МПБ і МПА, офарбувати за Грамом.

4. Промікрископіювати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках із чистих культур, які приготували студенти.

5. Приготувати мазок із суміші бактерій *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides*.

6. Офарбувати мазок із суміші бактерій за Грамом.

7. Промікрископіювати, описати і ідентифікувати *S. epidermidis*, *E. coli* і *B. anthracoides* в мазках з їх суміші.

8. Посіяти суміш бактерій на чашку Петрі з МПА, використовуючи метод Дригальського, для отримання ізольованих колоній кожного виду.

9. Оформити протокол.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 11

Тема заняття: Вивчення колоній. Пігменти бактерій
Мета: Освоєння практичних навичок роботи при виділенні чистих культур бактерій: II -й день дослідження.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 2. Фізіологія бактерій.

Тема заняття 11. Вивчення колоній. Пігменти бактерій.

Актуальність теми. На щільних живильних середовищах бактерії утворюють різні за формою і величиною колонії – видимі скупчення мікроорганізмів одного виду, які формуються в результаті розмноження однієї клітини.

Колонії бувають:

- плоскими, опуклими, куполовидними, втиснутими;
- їх поверхня – гладкою (S-форма), шорсткою (R-форма), покресленою;
- краї – рівними, зазубреними, волокнистими, бахромчастими;
- форма колоній також різноманітна: кругла, розеткоподібна, зірчаста;
- за величиною колонії діляться на великі (4-5 мм), середні (2-4 мм), дрібні (1-2 мм).

Колонії розрізняються за консистенцією, щільністю, кольором. Вони можуть бути прозорими і непрозорими, забарвленими і безбарвними, вологими, сухими, слизовими.

Колір колоній визначається утворенням пігментів, які діляться на:

- розчинні у воді і спирті (синьо-зелений пігмент синьогнійної палички – *Pseudomonas aeruginosa*),
- нерозчинні у воді, але розчинні у спирті (білий пігмент *Staphylococcus epidermidis*),
- нерозчинні у воді і спирті (чорні і бурі пігменти цвілі).

Колір колоній допомагає диференціювати бактерії. Колонії актиноміцетів (*Actinomyces bovis*), мікрококів забарвлені в рожевий колір, стафілокока – в золотистий (*S. aureus*), лимонно-жовтий (*S. citreus*) і білий кольори (*S. albus*), синьогнійної палички (*P. aeruginosa*) – в синьо-зелений, мікобактерій туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*) – в жовтий. Деякі пігменти утворюються тільки при світлі (каротиноїди в *M. tuberculosis*), а деякі виявляють антибіотичні властивості (*P. aeruginosa*). Пігменти захищають бактерії від дії видимих і УФ-променів.

Конкретні цілі:

1. Вивчити методи виділення чистих культур бактерій.
2. Описувати колонії, особливості їх формування у різних видів бактерій.
3. Вивчити особливості пігментоутворення у бактерій.
4. Описувати найбільш вагомі пігменти, які використовуються для диференціації бактерій.
5. Освоїти метод пересівання колоній для отримання чистих культур бактерій.
6. Тракувати результати зростання суміші бактерій на щільних живильних середовищах.

Уміти:

1. Проводити макроскопічне вивчення колоній.
2. Проводити пересівання колоній бактерій для виділення чистих культур.
3. Проводити перевірку виділених культур бактерій на чистоту.
4. Готувати мікропрепарати з колоній бактерій.
5. Офарблювати мікропрепарати за Грамом.
6. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопа.
7. Аналізувати отримані дані щодо різноманітності колоній.

Теоретичні питання:

1. Схема виділення чистих культур.
2. Особливості формування колоній у різних видів бактерій.
3. Пігментоутворення у бактерій і його значення в диференціації бактерій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Продовження виділення чистих культур бактерій: макроскопічне вивчення колоній.
2. Приготування мікропрепаратів із отриманих колоній.
3. Забарвлення мікропрепаратів за Грамом.
4. Мікроскопія мікропрепаратів, їх аналіз і замалювання в протокол.
5. Пересівання виділених колоній на МПА для отримання чистих культур.
6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.
2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з макроскопічного вивчення колоній на МПА. Потім студенти готують мікропрепарати з різноманітних колоній (кишкової палички, стафілокока і антраксіда), офарблюють їх за Грамом і проводять мікроскопію. Після аналізу мікропрепаратів, їх замальовують в протокол.

На другому етапі студенти проводять пересівання виділених колоній на МПА для отримання чистих культур.

В кінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Як відомо, деякі пігменти у бактерій утворюються тільки при світлі. Які з перерахованих бактерій мають таку властивість?

A. *P. aeruginosa*

B. *S. aureus*

C. *S. albus*

D. *S. citreus*

E. *M. tuberculosis*

2. У пацієнта Р. з харчовим отруєнням, з випорожнень висіяли бактерії, утворюючі золотисті колонії на МПА. Який вид бактерій найімовірніше дає колонії такого типу?

A. Стафілококи

B. Стрептококи

C. Кишкова паличка

D. Сальмонели

E. Шигели

3. При плановому обстеженні персоналу одного з дитячих садів на бактеріоносійство патогенних бактерій, у однієї з виховательок виділена чиста культура бактерій, яка на кров'яному агарі утворювала золотисті колонії із зоною гемолізу? Носійство якого виду бактерій можна запідозрити в цьому випадку?

A. *P. aeruginosa*

B. *S. aureus*

C. *S. albus*

D. *S. citreus*

E. *M. tuberculosis*

4. У хірургічному відділенні виник спалах шпитальної інфекції, викликаної *E.coli*. Які колонії утворюють ці бактерії на МПА?

A. Безкольорові колонії

B. Червоні колонії

C. Жовті колонії

D. Білі колонії

E. Не дають росту

5. Відомо, що для виділення чистої культури бактерій простіше зробити пересівання ізольованої колонії. На якому середовищі можна отримати ізольовані колонії?

A. МПБ

B. МПЖ

C. МПА в чашках Петрі

D. МПА в пробірках

E. Всі відповіді не вірні

6. Який пігмент розчинюється у воді?

A. Зелений пігмент *P.aeruginosa*

B. Білий пігмент *S.epidermidis*

C. Жовтий пігмент *S.aureus*

D. Сірий пігмент *B.anthracooides*

E. Чорний пігмент цвілі

7. Який метод використовують для отримання ізольованої колонії?

A. Метод роз'єднуючого штриха

B. Посів в напіввідки агар

C. Посів на скошений агар

D. Посів піпеткою в МПБ

E. Посів бактеріологічною петлею в МПБ

8. Який пігмент нерозчинюється у воді, але розчинюється у спирті?

A. Зелений пігмент *P.aeruginosa*

B. Білий пігмент *S.epidermidis*

C. Коричневий пігмент дріжджів

D. Синій пігмент бактерій синьо-зеленого гною

E. Чорний пігмент цвілі

9. Який пігмент нерозчиняється у воді і спирті?

A. Зелений пігмент *P.aeruginosa*

B. Білий пігмент *S.epidermidis*

C. Жовтий пігмент *S.aureus*

D. Сірий пігмент *B.anthracooides*

E. Чорний пігмент цвілі

10. Пігменти мають для бактерій фізіологічне значення, а саме:

A. Беруть участь в диханні бактерій

B. Мають антибіотичну активність

C. Захищають бактерії від природної ультрафіолетової радіації

D. Є акцепторами водню

E. Все вище вказане

11. S-форма колонії бактерій характеризується поверхнею:

A. Гладкою

B. Шорсткою

C. Радіальною

D. Хвилястою

E. Все вище вказане вірно

12. Колонія бактерій характеризується наступними ознаками, окрім:

A. Розмір, форма

B. Консистенція

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 12

Тема: Ферменти бактерій. Ідентифікація виділеної чистої культури.

Мета: Вивчити методи ідентифікації виділених чистих культур бактерій.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.
Змістовний модуль 3. Метаболізм у бактерій. Фізіологія бактерій.

Тема 12. Ферменти бактерій. Ідентифікація виділеної чистої культури.

Актуальність теми. Ферменти – біологічні каталізатори високомолекулярної структури, що виробляються живою клітиною. Вони мають білкову природу і відіграють важливу роль в обміні речовин мікроорганізмів. Ферменти забезпечують засвоєння бактеріями поживних речовин і синтез складних органічних сполук. Основні 6 груп ферментів:

- а) гідролази - розщеплюють білки, вуглеводи, ліпіди шляхом приєднання води;
- б) оксидоредуктази - каталізують окислювально-відновні реакції;
- в) трансферази - здійснюють перенос окремих атомів від молекули до молекули;
- г) ліази - відщеплюють хімічні групи негідролізним шляхом;
- д) ізомерази - приймають участь у обміні вуглеводів;
- е) лігази - сприяють біосинтетичним реакціям клітини.

Розрізняють конститутивні й адаптивні ферменти, а також ферменти агресії. Ферменти бактерій мають високу активність і широко застосовуються у промисловості, сільському господарстві, медицині. У медичній промисловості завдяки застосуванню ферментів дістають алкалоїди, стероїди, полісахариди. У сільському господарстві на основі ферментів дріжджів дістають білково-вітамінні концентрати на продуктах відходу нафти. Для кожного виду бактерій характерні специфічні ферменти, тому у мікробіології ферментативна активність бактерій використовується для ідентифікації бактерій. Вивчення біохімічних властивостей бактерій проводиться на диференціально-діагностичних середовищах (Ендо, Левіна, Плоскірева, Ресселя, Гісса та ін.). Диференційно-діагностичні середовища поділяються на три групи: 1) середовища для виявлення протеолітичної властивості бактерій (МПБ, м'ясо-пептонний желатин); 2) середовища для вивчення ферментації вуглеводів (Ендо, Плоскірева, Гісса, Ресселя); 3) середовища для визначення гемолітичної активності (кров'яний агар).

Вивчення протеолітичної активності проводиться за допомогою індикаторів, які дають можливість виявляти виділення сірководню, індолу та

ін. при розщепленні білку. Для цього використовують індикатори ацетату свинцю (на сірководень) та щавлевої кислоти (на індол). Індикатори при їх використанні змінюють колір: при виділенні сірководню – чорніють, при виділенні індолу – червоніють. Для визначення ферментації вуглеводів використовуються середовища Гісса, до складу яких входять глюкоза, лактоза, маніт, мальтоза, сахароза та індикатор Андресе (карболовий фукцин, знебарвлений содою). При ферментації того чи іншого вуглеводу середовище червоніє.

Конкретні цілі:

1. Вивчити методи ідентифікації виділених чистих культур бактерій.
2. Описувати найбільш вживані диференційно-діагностичні поживні середовища та їх приготування.
3. Пояснювати зміни у диференційно-діагностичних середовищах при рості бактерій.
4. Трактувати результати ідентифікації виділених чистих культур бактерій та робити висновок.

Уміти:

1. Проводити посів бактерій на диференційно-діагностичні поживні середовища.
2. Проводити перевірку виділених культур бактерій на чистоту.
3. Готувати мікропрепарати із виділених культур бактерій.
4. Фарбувати мікропрепарати за Грамом.
5. Проводити мікроскопію мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопу.
6. Аналізувати ферментативні властивості виділених чистих культур.

Теоретичні питання:

1. Ферменти бактерій, їх класифікація.
2. Використання мікробів та їх ферментів у біотехнології.
3. Методи вивчення ферментативної активності бактерій та використання їх для ідентифікації бактерій.
4. Сучасні методи прискореної ідентифікації бактерій за допомогою автоматизованих індикаторів ферментативної активності.
5. Диференційно-діагностичні поживні середовища. Загальний принцип їх користування (приклади).

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Продовження виділення чистих культур бактерій: перевірка чистоти культури.
2. Приготування мікропрепаратів із виділеної чистої культури.
3. Фарбування мікропрепаратів за Грамом.
4. Мікроскопія мікропрепаратів із чистих культур бактерій, їх аналіз та замальовування у протокол.

5. Пересів виділеної чистої культури на середовища Гісса та МПБ для виявлення індолу та сірководню.

6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

2. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається із вивчення диференційно-діагностичних поживних середовищ, які використовуються для ідентифікації виділених бактерій. Потім студенти вивчають власні посіви, зроблені на попередньому занятті: проводиться перевірка чистоти культури. Для цього студенти готують мікропрепарати із виділеної чистої культури, фарбують їх за Грамом та проводять мікроскопію. Після аналізу мікропрепаратів, їх замальовують у протокол.

На другому етапі студенти проводять пересів виділеної чистої культури на середовища Гісса та МПБ для виявлення індолу та сірководню.

Наприкінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль та аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Резистентність до пеніцилінів і цефалоспоринів, зокрема стафілококів, зумовлена їх здатністю виробляти бета-лактамази. Укажіть, до якого типу із перелічених груп належать ці ферменти?

A. Конструктивні

B. Індуцибельні

C. Трансферази

D. Каталітичні

E. Ефекторні

2. У дитини 6 міс., що страждає на кишкову інфекцію, із випорожнень висіяли бактерії, що утворювали червоні колонії на середовищі Ендо. Який вид бактерій дає колонії такого типу на середовищі Ендо?

- A. Стафілококи В. Стрептококи С. Кишкова паличка
D. Сальмонели Е. Шигелли

3. При плановому обстеженні персоналу одного із дитячих садків на бактеріоносійство патогенних бактерій, у однієї із виховательок виділена чиста культура бактерій, яка на кров'яному агарі утворювала золотисті колонії із зоною гемолізу? Носійство якого виду бактерій можна запідозрити у цьому випадку?

- A. Менінгококи В. Гонококи С. Мікрококи
D. Сарцини Е. Стафілококи

4. В хірургічному відділенні виник спалах шпитальної інфекції, викликаной сальмонелами. Які колонії утворюють ці бактерії на середовищі Ендо?

- A. Безкольорові колонії В. Червоні колонії С. Жовті колонії
D. Білі колонії Е. Не дають росту

5. На практичному занятті студенти оцінювали протеолітичні властивості сальмонел і виявили потемніння індикатора із ацетатом свинцю. Яка речовина сприяла потемнінню індикатора?

- A. CO₂ В. Індол С. Аміак D. H₂S Е. Метан

6. В лабораторії було приготоване середовище Ендо і розлито в чашки Петрі. Коли через 2 дні його повинні були використовувати для виділення кишкових бактерій, виявилось, що середовище має червоний колір. Яка найбільш імовірна помилка, зроблена при приготуванні середовища?

- A. Невірно вибраний засіб стерилізації
B. Надлишкова кількість індикатора
C. Не дотримано співвідношення глюкози і лактози
D. При розливі середовища до нього потрапили бактерії з повітря
E. Не було перевірене рН середовища

7. Відомо, що до складу клітин бактерій входять різноманітні ферменти. Які з перелікованих ферментів є ферментами агресії?

- A. Колагенази В. Пермеази С. Дегідрогенази
D. Карбогідррази Е. Лігази

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення росту виділеної чистої культури на скошеному МПА.
2. Замалювати виготовлений мікропрепарат у протокол
3. Пересіяти виділену чисту культуру на середовища Гісса.
4. Пересіяти виділену чисту культуру на МПА та установити індикатори на індол та сірководень.
5. З метою підготовки до наступного заняття, посіяти ґрунт на середовище Кітт-Тароцці та молоко під вазеліновою олією.
6. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 13

Тема заняття: Дихання бактерій. Виділення чистих культур анаеробів.

Мета: Вивчення методів культивування анаеробних бактерій.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовий модуль 3. Фізіологія бактерій.

Тема заняття 13. Дихання бактерій. Виділення чистих культур анаеробів.

Актуальність теми. Розвиток, ріст, розмноження, рухомість мікроорганізмів здійснюється за рахунок енергії, що здобувається бактеріями у процесі дихання. Дихання (або біологічне окислення) мікроорганізмів - це сукупність біохімічних процесів, що супроводжуються виділенням енергії, яка необхідна для синтезу різних органічних компонентів мікробної клітини. Більшість мікроорганізмів використовують молекулярний кисень повітря тому, що мають цитохромну систему, що дозволяє їм використовувати кисень, як кінцевий акцептор водню. Але Л. Пастером було доказано, що деякі бактерії не можуть розвиватися в присутності кисню повітря. Тому, всі мікроорганізми за типом дихання підрозділяються на облигатні аероби – мікроорганізми, які для отримання енергії використовують вільний кисень, що потрібний як акцептор електронів (атомів водню), при цьому виділяється значна кількість енергії (мікобактерії туберкульозу), мікроаерофіли – потребують присутності мінімальної кількості кисню (лептоспіри, кампілобактерії), факультативні анаероби – для отримання енергії використовують аеробний та анаеробний шлях утилізації субстрату (кишкова паличка, сальмонела черевного тифу), облигатні анаероби – можуть утворювати АТФ при окисненні вуглеводів, білків і ліпідів шляхом субстратного фосфорилування (кlostридії правцю, ботулізму), капнічні бактерії – потребують присутності газу CO_2 .

Дихання у анаеробів відбувається шляхом ферментації субстрату з утворенням малої кількості енергії. Наявність вільного кисню для облигатних анаеробів є згубним. Це пов'язано з тим, що в присутності кисню кінцевим продуктом окислення органічних сполучень виявляється перекис водню. Оскільки анаероби не володіють здатністю до продукції ферменту каталази, що розщеплює перекис водню, то вона накопичується й виявляє токсичну дію на бактерії.

Для культивування анаеробів необхідно відтворити знижений парціальний вміст кисню у середовищі або у повітрі, що досягається наступними засобами:

1. Фізичні: анаеростат, апарат Кіпа, кип'ятіння середовища;
2. Механічні (додавання до середовищ редуруючих речовин): середовище Кітта – Тароцці, засіб Він'яль-Вейону, засіб Перетца, середовище Вільсон-Блера, агар Цейслера, молоко за Тукаєвим, засів уколком у високій стовпчик цукрового агару;
3. Хімічні: поглинання кисню у замкнутому просторі хімічним поглинанням (розчином пірогалолу) у ексикаторі, апараті Аристовського, свічці Омелянського;
4. Біологічний: засів Фортнера – аеробний-анаеробний симбіоз бактерій.

Виділення чистих культур анаеробів:

I доба – накопичення матеріалу. Матеріал, що досліджується, засівають на середовище Кітта-Тароцці, прокип'ячене протягом 20 хвилин перед засівом. Після засіву матеріалу середовище нагрівають 15 хвилин при 80 °С для знищення вегетативної флори; спори анаеробів при цьому не знищуються. Пробірки з засівами ставлять в термостат.

II доба – середовище мутніє, іноді в ньому з'являються бульбашки газу. Роблять мазки, забарвлюють їх за Грамом і виявляють крупні спорові й неспоріві грамположитивні бацили.

Виділення чистої культури анаеробів можливо провести за методом Вейнберга або за Цейслером.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитись із класифікацією мікроорганізмів за типом дихання.
2. Розібрати та вивчити схему дихання бактерій за участю ферментів, забезпечуючих біологічне окислення.
3. Навчитись трактувати принципи та методи культивування облигатних анаеробних бактерій.
4. Зробити висновки щодо бактеріального росту мікроорганізмів на середовищах, призначених для культивування облигатних анаеробів.
5. Навчитись трактувати й аналізувати результати бактеріологічного та мікроскопічного дослідження мікроорганізмів.

Уміти:

1. Здійснити засів у живильні середовища: Кітта-Тароцці, молоко під вазеліновою олією.
2. Приготувати фіксовані препарати з чистих культур анаеробів.
3. Пофарбувати мікропрепарати з чистих культур анаеробів за методом Грама.

4. Проводити мікроскопію препаратів з чистих культур анаеробів за допомогою імерсійного мікроскопу.

5. Аналізувати бактеріологічні та морфологічні ознаки анаеробів.

Теоретичні питання:

1. Типи дихання мікроорганізмів.

2. Ферменти, що беруть участь у біологічному окисненні.

3. Класифікація мікроорганізмів за типом дихання.

4. Засоби утворення анаеробних умов.

5. Розбір схеми виділення чистих культур анаеробів.

6. Методи виділення чистих культур анаеробів (метод Цейсслера та метод Вейнберга).

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів із чистих культур анаеробів.

2. Приготування фіксованих препаратів з бактеріальної культури анаеробів.

3. Фарбування мікропрепаратів за Грамом.

4. Мікроскопія мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопу, їх аналіз та замалювання у протокол заняття.

5. Замалювання демонстраційних препаратів та схеми виділення чистих культур анаеробів у протокол.

6. Здійснити засів у живильні середовища: Кітта-Тароцці, молоко під вазеліновою олією.

7. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестових завдань для самопідготовки по медичинській мікробіології і вірусології. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із вивчення класифікації мікроорганізмів за типом дихання, розбіру схеми дихання бактерій за участю ферментів, що забезпечують біологічне окислення. Вивчення методів культивування облигатних анаеробних бактерій. Студенти здійснюють засів у живильні середовища: Кітт-Тароцці та молоко під вазеліновою олією. Потім готують мікропрепарати, фарбують їх за методом Грама, проводять мікроскопію та замальовують мікропрепарати й дають необхідні пояснення. До скалади самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів та їх замалювання у протокол заняття.

Наприкінці заняття проводиться тестовий контроль та аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У хірургічному відділенні був випадок анаеробної інфекції після планової хірургічної операції. Який матеріал необхідно направити для бактеріологічного дослідження цього випадку?

- A. Сеча
- B. Кров
- C. Перев'язувальний й шовний хірургічний матеріал.
- D. Ранові виділення
- E. Шматочки тканини

2. В бактеріологічну лабораторію поступив матеріал від хворого з підозрою на анаеробну інфекцію. Яке з перелічених поживних середовищ слід використовувати для вилучення збудника захворювання?

- A. Ендо
- B. 10 % жовчний бульйон
- C. Кітта-Тароцці
- D. М'ясо-пептоний агар
- E. 1 % пептону воду

3. В бактеріологічну лабораторію було досліджено в'ялену рибу домашнього приготування, що стала причиною тяжкого харчового отруєння. При мікроскопії вилученої на середовищі Кітта-Тароцці культури виявлено мікроорганізми, що нагадують тенісну ракетку. Розвиток якого захворювання найбільш вірогідно викличуть виділені мікроорганізми?

- A. Черевного тифу
- B. Дизентерії
- C. Холери
- D. Ботулізму
- E. Сальмонельозу

4. Через дві доби після дорожно-транспортної пригоди у лікарню був доставлений потерпілий з травмою стегна й діагнозом «газова раньова інфекція». На яких з перелічених поживних середовищ культивуються клостридії анаеробної інфекції?

- A. Печінковий бульйон
- B. Лужна пептона вода
- C. Казеїново-вугільний агар
- D. Середовище Кітта-Тароцці

Е. Середовище з сироваткою

5. В лабораторію поступили консервовані гриби, внаслідок споживання яких пацієнт захворів на ботулізм. Який метод необхідно використовувати для вилучення чистої культури збудника?

- А. Левенштейна-Йенсена В. Вейнберга С. Леффлера
D. Тінсдаля-Садикової Е. Ожешки

6. В лабораторію направлено раневе виділення хворого з підозрою на раньову анаеробну інфекцію. Який метод необхідно використати для вилучення чистої культури збудника?

- А. Цейслера В. Тукаєва С. Тінсдаля-Садикової
D. Мак-Коя Е. Він'яль-Вейона

7. В інфекційній лікарні знаходиться на лікуванні хворий з діагнозом «ботулізм». Які морфологічні та тинкторіальні властивості притаманні *C. botulinum*?

- А. Грампозитивні палички з термінальним розташуванням спори
В. Грампозитивні палички з субтермінальним розташуванням спори
С. Грамнегативні палички з центральним розташуванням спори
D. Грампозитивні палички неспорують
Е. Грампозитивні палички з центральним розташуванням спори

8. Для прискороеного дослідження гною з післяопераційної рани необхідно застосовувати наступні середовища:

- А. Молоко під олією й середовище Вільсона-Блера
В. Середовище Ендо С. Середовище Ру
D. Середовище Він'яль-Вейону Е. Цукровий агар

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Розбір схеми дихання бактерій за участю ферментів, що забезпечують біологічне окислення.

2. Знайомство з класифікацією мікроорганізмів за типом дихання.

3. Вивчення методів культивування облигатних анаеробних бактерій.

4. Приготування фіксованих препаратів з бактеріальної культури анаеробів.

5. Фарбування мікропрепаратів за Грамом.

6. Мікроскопія мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопу, їх аналіз та замалювання у протокол заняття.

7. Мікроскопія та аналіз демонстраційних препаратів із чистих культур анаеробів.

8. Замалювання демонстраційних препаратів та схеми виділення чистих культур анаеробів у протокол.

9. Здійснення засіву у живильні середовища: Кітта-Тароцці та молоко під вазелиновою олією.

10. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 14

Тема: Культивування вірусів, рикетсій, хламідій.

Мета: Освоєння методів культивування вірусів, рикетсій, хламідій.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 3. Фізіологія бактерій.

Тема заняття 14. Культивування вірусів, рикетсій, хламідій.

Актуальність теми. У зв'язку з відсутністю у вірусів метаболічних систем, їх репродукція може відбуватися тільки в живих клітинах у вигляді продуктивного, інтеграційного і абортивного типу. Репродукція вірусів в процесі взаємодії їх з клітиною проходить у декілька етапів.

Основні етапи взаємодії вірусів з клітинами при продуктивній інфекції:

- 1) адсорбція,
- 2) проникнення в клітину,
- 3) “роздягання”,
- 4) біосинтез компонентів вірусу,
- 5) утворення вірусних частинок,
- 6) вихід вірусів з клітини.

При інтеграційному типі взаємодії вірусний геном (ДНК-провірус) функціонує як складова частина клітинного генома і клітина набуває нових властивостей, продовжуючи виконувати свої функції. Виникає персистенція вірусів. Абортивний тип взаємодії виникає при проникненні вірусів в нечутливі клітини, де неможлива репродукція вірусів.

Існують такі методи культивування вірусів: у клітинних культурах, в курячих ембріонах, в організмі лабораторних тварин.

1. Методи культивування вірусів в клітинах найбільш поширені.

Види клітинних культур:

а) первинні – готують з нормальних тканин ембріональних або дорослих організмів шляхом трипсинізації, витримують 2-4 пасажи.

б) що перевиваються або пасажні – готують з тканин злоякісних пухлин, витримують тисячі генерацій (HeLa);

в) що напівперевиваються – витримують до 70 пасажів (диплоїдні клітини легенів людини).

Для отримання одношарової тканинної культури використовуються живильні середовища 199, Ігла, Хенкса.

Виявлення репродукції вірусів у культурі тканини:

а) за цитопатичною дією (ЦПД) вірусів: повна або часткова деструкція моношару; зміна форми клітин; виникнення багатоядерних клітин і симпластів;

б) утворення внутрішньоклітинних включень – місце посиленого розмноження вірусів і реакція клітини на впровадження вірусу;

в) за допомогою реакції гемадсорбції;

г) за кольоровою пробою;

д) виявлення вірусного гемаглютиніна або вірусного антигена в реакції гемаглютинації (РГА) і реакції зв'язування комплемента (РЗК);

е) виявлення вірусних бляшок.

2. Культивування вірусів в курячих ембріонах використовується обмежено, оскільки тільки деякі віруси репродукуються в тканинах курячого ембріона (вірус натуральної віспи, грипу, герпесу простого, епідемічного паротиту).

Місце введення матеріалу, що містить вірус:

а) у порожнину амніона і алантоїсну;

б) у жовтковий мішок;

в) у мозок, тіло ембріона;

г) на хоріоалантоїсну оболонку.

Визначення репродукції вірусів проводиться за специфічними змінами в ембріоні і за допомогою РГА (вірус грипу).

Специфічні зміни в ембріоні:

а) бляшки на хоріоалантоїсній оболонці (віруси натуральної віспи і вісповакцини);

б) дифузне помутніння оболонок;

в) поява крововиливів;

г) ділянки некрозу.

3. Культивування вірусів в організмі тварин (віруси Коксаки, сказ) має позитивні сторони – доступність, чіткість симптомів, моделювання інфекційного процесу, накопичення вірусу у великій кількості (для отримання вакцин). Недоліки – не всі віруси можна культивувати, лабораторні тварини – відкрита система, яка містить власну мікрофлору, у тому числі і латентні віруси.

Культивування рикетсій і хламідій проводиться тими ж методами, що і вірусів. Так, рикетсії можна культивувати в жовтковому мішку курячого ембріону, в легенях білих мишей і кишечника вошей. Хламідії також можна культивувати в жовтковому мішку курячого ембріона і при внутрішньомозковому зараженню білих мишей.

Конкретні цілі:

1. Вивчити методи культивування вірусів в клітинних культурах, в курячих ембріонах, в організмі лабораторних тварин.

2. Вивчити методи виявлення репродукції вірусів в клітинних культурах, в курячих ембріонах, в організмі лабораторних тварин.
3. Вивчити методи культивування рикетсій.
4. Вивчити методи культивування хламідій.

Теоретичні питання:

1. Особливості розмноження вірусів.
2. Сучасні методи культивування вірусів.
3. Культивування вірусів в курячому ембріоні.
4. Культивування вірусів в клітинних культурах.
5. Характер ЦПД вірусів на клітинних культурах.
7. Методи культивування рикетсій.
8. Методи культивування хламідій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопія клітинних культур в нормі і з цитопатичною дією вірусів, їх аналіз і замалювання в протокол.
2. Ознайомлення з будовою курячого ембріона (схема).
3. Зараження курячих ембріонів вірусом віспакини в алантоїсну порожнину.
4. Розтин курячих ембріонів, які раніше були заражені вірусом віспакини.
5. Аналіз змін алантоїсної оболонки заражених ембріонів, і запис висновків у протокол.
6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.
2. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.
3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.
5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харьков, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з мікроскопії клітинних культур в нормі і з цитопатичною дією вірусів, їх аналізу і замальованню в протокол. Після ознайомлення з будовою курячого ембріона за схемою, студенти проводять зараження курячих ембріонів вірусом вісповакцини в алантоїсну порожнину. Потім проводиться розтин курячих ембріонів, які раніше були заражені вірусом вісповакцини.

Далі студенти аналізують зміни алантоїсної оболонки заражених ембріонів, і записують висновки в протокол.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Для виділення вірусу грипу в матеріалі, який поступив в лабораторію, використовували курячі ембріони. Який з перерахованих показників є основним для виявлення накопичення вірусу через 48-72 годин?

- A. Реакція аглютинації (РА)
- B. Гибель курячого ембріона
- C. РГА з алантоїсною рідиною
- D. Наявність крові в алантоїсній оболонці
- E. Утворення бляшок на алантоїсній оболонці

2. У дитячу інфекційну лікарню доставили дитину у важкому стані з підозрою на вірусну інфекцію. Як виділити вірус, що викликав захворювання, з матеріалу, взятого у дитини?

- A. Зробити посів на середовище Хенкса
- B. Зробити посів на середовище 199
- C. Зробити посів на середовище Кітта-Гароцці
- D. Заразити вошей
- E. Заразити клітинну культуру

3. На практичному занятті студенти провели зараження курячих ембріонів вірусом вісповакцини. Який з перерахованих показників є основним для виявлення накопичення вірусу через 48-72 годин?

- A. РА
- B. Утворення бляшок на алантоїсній оболонці
- C. РГА з алантоїсною рідиною
- D. Наявність крові в алантоїсній оболонці
- E. Гибель курячого ембріона

4. У пацієнта з уретритом запідозрили хламідіоз. Для підтвердження діагнозу в лабораторію направили виділення з уретри для виявлення хла-

мідій. Який метод виділення хламідій треба використовувати для підтвердження діагнозу?

- A. Заразити курячі ембріони в амніотичну порожнину
- B. Заразити курячі ембріони в алантоїсну порожнину
- C. Провести внутрішньомозкове зараження білих мишей
- D. Заразити вошей
- E. Зробити посів на середовище 199

5. У вірусологічну лабораторію були доставлені курячі ембріони з різним терміном ембріогенеза. Якого терміну ембріогенеза необхідно дотримуватися при зараженні курячих ембріонів вірусами?

- A. 3-5 днів
- B. 8-13 днів
- C. 15-18 днів
- D. 18-21 днів
- E. Во всі терміни

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Мікроскопія тканинних культур в нормі.
2. Мікроскопія тканинних культур в нормі та з цитопатичною дією вірусів.
3. Аналіз цитопатичної дії вірусів і замалювання препаратів в протокол.
4. Ознайомлення з будовою курячого ембріона за схемою.
5. Зараження курячих ембріонів вірусом віспаковки в алантоїсну порожнину.
6. Розтин курячих ембріонів, які раніше були заражені вірусом віспаковки.
7. Аналіз зміни алантоїсної оболонки заражених ембріонів і запис висновків в протокол.
8. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 15

Тема: Інфекційний процес, його види і умови виникнення.

Мета: Вивчення методів дослідження інфікованих лабораторних тварин.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.
Змістовний модуль 4. Інфекція.

Тема заняття 15. Інфекційний процес, його види і умови виникнення.

Актуальність теми. Під поняттям «інфекція» (зараження) і «інфекційний процес» розуміють сукупність біологічних процесів, що відбуваються в макроорганізмі при впровадженні в нього патогенного мікроорганізму.

Інфекційні хвороби відрізняються від інших хвороб тим, що вони викликаються живими збудниками. За характером взаємовідносин мікроби бувають сапрофітами і паразитами. Останні живуть за рахунок інших організмів. Яке-небудь сумісне мешкання мікроба з макроорганізмом називається симбіозом, який має наступні форми: коменсалізм – мешкання, що не заподіює один одному шкоди; мутуалізм – симбіоз, при якому обидва організми мають для себе взаємну користь; паразитизм – коли один організм живе за рахунок іншого і наносить йому шкоду.

Хвороботворні мікроби мають назву патогенних і є наслідком еволюції паразитизму. Паразитизм – це видова ознака мікробів.

Вірулентність – це ступінь патогенності мікробів. Для характеристики вірулентності використовують кількісні показники загибелі експериментальних тварин при ураженні їх мікробною культурою.

- D_{lm} (Dosis letalis minima) – загибель більше 80 % тварин, узятих в дослід;

- D_{cl} (Dosis certa letalis) – загибель 100 % тварин;

- LD 50 (letalis dosis) – доза, яка викликає загибель 50 % тварин, що дозволяє отримати достовірніші результати.

Вірулентність патогенних мікробів пов'язана з токсиноутворенням, інвазивним і іншими чинниками.

Токсини підрозділяються на екзо- і ендотоксини. Особливу роль в патології людини грають мікроорганізми, що продукують екзотоксини (дифтерійний, правцевий, ботулінічний), які характеризуються вираженою токсичністю, ураженням окремих органів і тканин.

Екзотоксини – це білкової природи токсини, здатні викликати утворення антитіл-антитоксинів. Токсигенність мікробів визначається таким

же чином, як і вірулентність. Одиницями вимірювання токсигенності є D_{1m} та LD 50.

Ендотоксини міцно пов'язані з тілом бактеріальної клітини, менш токсичні, вражають організм тільки у великих дозах.

Окрім бактерій, токсини виявлені у рикетсій. Вони тісно пов'язані з тілом самих рикетсій і порівняно швидко руйнуються при загибелі рикетсій. Під дією токсинів відбувається глибоке пригнічення окислювального циклу трикарбонових кислот (цикл Кребса).

У організм людини патогенні мікроби потрапляють різними шляхами. При попаданні мікробів в кров виникає бактеріємія, при попаданні вірусів – вірусемія. Коли мікроби заселяють органи і тканини – септицемія, а коли септичний процес супроводжується утворенням гнійних вогнищ в різних органах і тканинах – септикопіємія. Наявність токсинів в крові – токсемія.

Розвиток інфекційного процесу складається з 4 періодів:

1. Інкубаційний – з моменту проникнення мікроба до появи перших ознак захворювання;
2. Продромальний – коли розвиваються загальні ознаки для багатьох хвороб і відсутні характерні для даної хвороби симптоми;
3. Розпал хвороби – найбільш типові ознаки для цієї хвороби;
4. Період одужання (реконвалесценції) – згасання хвороби.

За своїми проявами інфекції підрозділяються на:

- гострі (грип);
- хронічні (малярія);
- явні;
- приховані, латентні (туберкульоз);
- змішані (декілька збудників);
- вторинні (секундарні) (коли після перенесеного грипу виникає запалення легенів).

Одну з форм взаємин між збудником і організмом людини або тварини без прояву явної хвороби представляє носійство патогенних мікроорганізмів. Носійство тривалістю до 3 місяців прийнято вважати гострим, а довшє за цей термін – хронічним.

Реінфекція – повторне зараження тим або іншим видом мікроба, який викликав захворювання, що завершилося одужанням (грип, гонорея).

Суперінфекція – повторне зараження організму, у якого не закінчилося основне захворювання тим же видом мікроорганізму.

Рецидив – повернення симптомів того ж захворювання без повторного зараження (хвороба Бриля при висипному тифі).

У боротьбі з інфекційними хворобами спочатку проводять дослідження на лабораторних тваринах. Зараження лабораторних тварин використо-

вується для створення «моделі» інфекції. Наприклад, при внутрішньоочеревинному зараженні виникає перитоніт, при внутрішньовенному – сепсис, при внутрішньошкіряному – некроз тканини. Далі тварині проводять лікування з підбором і призначенням антибіотиків різного спектру дії. Ці методи називаються біологічними або експериментальними. Широко використовуються досягнення науки і техніки для боротьби з інфекційними хворобами, створюючи якнайкращі умови роботи і життя людей.

Конкретні цілі:

1. Тракувати поняття „інфекційний процес”.
2. Аналізувати форми інфекційного процесу, їх характеристики і умови виникнення.
3. Оцінювати чинники патогенності бактерій.
4. Характеризувати поняття „патогенність”, „вірулентність”.
5. Аналізувати механізми розвитку інфекційного процесу (патогенез).

Уміти:

1. Проводити зараження лабораторних тварин.
2. Проводити розтин лабораторних тварин.
3. Готувати мікропрепарати – мазки-відбитки з органів лабораторних тварин.
4. Офарблювати мікропрепарати метиленовим синім.
5. Проводити забір крові з серця мишей.
6. Проводити посів забраної крові на живильні середовища (МПА та МПБ).
7. Аналізувати отримані результати.

Теоретичні питання:

1. Визначення поняття “інфекція”, “інфекційний процес”, “інфекційна хвороба”.
2. Роль мікроорганізмів в інфекційному процесі. Патогенність мікробів, визначення.
3. Вірулентність, визначення, одиниці вимірювання. Чинники патогенності бактерій.
4. Фази і динаміка розвитку інфекційної хвороби.
5. Форми інфекцій і механізми передачі інфекції.
6. Поняття про патогенез інфекційної хвороби.
7. Біологічний метод дослідження. Його застосування при вивченні етіології, патогенезу, імуногенезу, діагностики, терапії і профілактики інфекційних захворювань.

Практичні завдання, що виконуються на практичному занятті:

1. Зараження лабораторних тварин (мишей) чистою культурою антракоїда.
2. Розтин лабораторних тварин.

3. Приготування мікропрепаратів – мазків-відбитків з органів лабораторних тварин.
4. Офарбування мікропрепаратів метиленовим синім.
5. Забір крові з серця мишей.
6. Посів забраної крові на живильні середовища (МПА та МПБ).
7. Оформлення протоколу.

Література:

1. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.
2. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125с.
3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з зараження лабораторних тварин (мишей) чистою культурою антракоїда в очеревину. Потім студенти проводять розтин тварин, загиблих від інфекції, і готують мікропрепарати – мазки-відбитки з органів тварин (печінки, селезінки, лімфатичних вузлів і т.д.), які офарблюють за Романовським-Гімзою і мікроскопують. Після аналізу мікропрепаратів їх замальовують у протокол.

Окрім цього, студенти проводять забір крові з серця мишей і проводять посів забраної крові на живильні середовища (МПА і МПБ).

В кінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. До чинників патогенності мікроорганізмів відносять колонізацію. Який з перерахованих мікроорганізмів має таку здатність?

- | | | |
|-------------------|--------------------|-------------|
| A. E. coli | B. C. diphtheriae | C. S. typhi |
| D. N. gonorrhoeae | E. M. tuberculosis | |

2. Відомо, що патогенним мікроорганізмом властива інвазивна дія, обумовлена чинниками розповсюдження. Який фермент обумовлює проникнення мікроорганізмів в глибоку тканину?

- A. Гемолізін
B. Пермеаза
C. Гіалуронідаза
D. Карбогідраза
E. Лігаза

3. У хірургічному відділенні виник спалах шпитальної інфекції, викликаной *S. aureus*. Яке живильне середовище використовується для виявлення гемолітичної активності *S. aureus*?

- A. МПА
B. МПБ
C. Середовище Ендо
D. Середовище Ру
E. Кров'яний агар

4. Відомо, що до складу клітин бактерій входять різні ферменти. Які з перерахованих ферментів є ферментами агресії?

- A. Колагенази
B. Пермеази
C. Дегідрогенази
D. Карбогідрази
E. Лігази

5. При бактеріологічному обстеженні хворого на ангіну на кров'яному агарі ізольовано культуру патогенного стафілокока. Який фермент патогенності стафілокока визначається на такому середовищі?

- A. Лецитіназа
B. Гемолізін
C. Плазмокоагулаза
D. Фібринолізин
E. Каталаза

6. У хворого виявлена гостра гонорея. З анамнезу відомо, що пацієнт раніше хворів на гонорею і повністю вилікувався. До якої групи інфекцій можна віднести це нове захворювання?

- A. Секундарна інфекція
B. Суперінфекція
C. Рецидив
D. Реінфекція
E. Аутоінфекція

7. У дитини, що хворіє на кір, діагностована стафілококова пневмонія. До якої групи інфекцій можна віднести це захворювання?

- A. Секундарна інфекція
B. Суперінфекція
C. Рецидив
D. Реінфекція
E. Аутоінфекція

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення росту виділеної чистої культури на скошеному МПА:

а) опис росту бактерій

б) перевірка чистоти культури – приготування мазків, забарвлення за

Грамом, мікроскопія і аналіз.

2. Замалювати приготований мікропрепарат в протокол.

3. Пересіяти виділену чисту культуру на середовище Гісса.

4. Пересіяти виділену чисту культуру на МПА і встановити індикатори на індол і сірководень.

5. З метою підготовки до наступного заняття, посіяти ґрунт на середовище Кітта-Тароцці і молоко під вазелиновою олією.

6. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: Реакції імунітету: реакція аглютинації, реакція преципітації.

Мета: Володіти технікою постановки реакції аглютинації і реакції преципітації для діагностики інфекційних захворювань.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 5. Реакції імунітету.

Тема заняття 16. Реакція аглютинації. Реакція преципітації.

Актуальність теми. Під імунітетом мають на увазі несприйнятливність організму до інфекційних і неінфекційних агентів (патогенних мікроорганізмів, чужорідних білків і ін. речовин). Ці агенти отримали назву антигенів. Імунітет буває природженим і набутим.

Природжений - коли формуються тканинні і гуморальні захисні пристосування, які обумовлюють несприйнятливність до інфекційних захворювань, що передаються за спадком.

Набутий - здійснюється імунною системою організму у вигляді вироблення антитіл або накопичення сенсibilізованих лімфоцитів. Він підрозділяється на природний і штучний. За механізмом дії розділяється на активний і пасивний. У всіх імунологічних реакціях основним компонентом є антиген.

Основною функцією імунної системи, яка складається з лімфоїдної тканини, є розпізнавання чужорідних агентів (антигенів) і знешкодження їх.

Антигени можуть потрапляти в організм через дихальні шляхи, травний тракт, через шкірні і слизові покриви. Кожен антиген стимулює утворення особливих білкових речовин – антитіл.

Антигени підрозділяються на повноцінні і неповноцінні (гаптени). Повноцінні антигени викликають повну імунну відповідь. Неповноцінні антигени самостійно не викликають імунної відповіді, але іноді набувають цієї здатності при кон'югації з високомолекулярними білковими носіями. Крім того, бувають антигени: напівгаптени, проантигени, гетероантигени і ізоантигени.

Антитіла є імуноглобуліни сироватки крові людини або тварини. Утворюються антитіла після перенесеної інфекції, і в результаті імунізації ослабленими або убитими бактеріями, рикетсіями, вірусами, токсинами і іншими агентами. Антитіла - білки імуноглобулінів, за хімічним складом відносяться до глікопротеїдів. За структурою і імунобіологічними власти-

востями імуноглобуліни підрозділяються на 5 класів: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD.

Нормальні антитіла виявляють у людей і тварин не імунізованих. Специфічні антитіла утворюються в результаті перенесеної інфекції або ж імунізації.

Реакції взаємодії антитіла з антигеном називаються серологічними. Серологічні реакції відрізняються високою специфічністю і застосовуються при діагностиці багатьох інфекційних захворювань. Розрізняють реакції аглютинації і преципітації.

1. Реакція аглютинації (РА) заснована на взаємодії антигена (аглютиногена) і антитіла (аглютиніна), при якому відбувається склеювання і випадання в осад мікробних тіл у присутності електроліту. Існують різні модифікації постановки реакції аглютинації.

Найбільше значення мають:

А. Макроскопічна (розгорнута) аглютинація в пробірках. До сироватки хворого додають суспензію мікробів (діагностикум) і через 1 годину в термостаті при температурі 37 градусів відзначають розведення (титр) сироватки, при якому відбулася реакція. Позитивно вважають реакцію аглютинації тоді, коли на дні пробірки утворюється осад з вираженим проясненням надосадової рідини. Цей осад називається аглютинатом.

За характером аглютината розрізняють дрібнозернисту (О) і грубозернисту (Н) аглютинацію. Для виявлення дрібнозернистого аглютината користуються аглютиноскопом. Облік результатів починають з контрольних пробірок. Останнє розведення сироватки, в якій спостерігається аглютинація, вважають її титром.

Мета реакції: виявлення антитіл в сироватці хворого.

Б. Мікроскопічна (прискорена) орієнтовна аглютинація на склі. До краплі діагностичної імуноної сироватки вносять краплю бактерійної культури і рівномірно перемішують. Реакція протікає при кімнатній температурі через 5-10 хвилин. Потім проводять облік. При позитивній реакції в краплі з сироваткою відзначають скупчення бактерій у вигляді зерняток або пластівців. Мета реакції: визначення виду збудника за відомою діагностичною сироваткою.

В. Реакція непрямой (пасивної) гемаглютинації (РНГА). Суть цієї реакції полягає в тому, що еритроцити барана здатні адсорбувати на своїй поверхні антигени. Під впливом специфічних антитіл, еритроцити склеюються і випадують в осад, утворюючи на дні гемаглютинат. Реакція відрізняється високою чутливістю і специфічністю. РНГА дозволяє виявити мінімальну кількість антитіл і неповноцінні антигени полісахаридної природи. Цю реакцію застосовують при діагностиці багатьох інфекційних захворювань (черевного і висипного тифу, паратифів, туберкульозу і ін.).

2. Реакція преципітації (РП) - осадження комплексу антиген-антитіло. Основною відмінністю РП від РА є те, що при РА застосовується корпускулярний антиген, а при РП - антиген є колоїдною речовиною білкової або полісахаридної природи. У цій реакції антиген називається преципітиноген, а антитіла - преципітини. Реакцію ставлять в пробірках нашаруванням розчину антигена на імунну сироватку. При оптимальному співвідношенні антигена і антитіл на межі цих розчинів утворюється кільце преципітату. Якщо як антиген використовують прокип'ячені і профільтровані екстракти органів і тканин, реакція називається реакцією термопреципітації (реакція Асколі, яку ставлять при діагностиці сибірської виразки і ін.).

Широкого поширення набули реакції преципітації в агарі: метод простої дифузії, метод подвійної дифузії.

Різнovidом преципітації є реакція флокуляції - для визначення активності анатоксина або антиоксичної сироватки. Крім того, можна використовувати цю реакцію для визначення токсигенності штамів *Corynebacterium diphtheriae*.

Конкретні цілі:

1. Пояснити роль антигенів, як індукторів імунної відповіді;
2. Описати структуру антигенів, зокрема антигенів мікроорганізмів;
3. Описати структуру антитіл (різних класів імуноглобулінів);
4. Проаналізувати механізм взаємодії антитіл з антигенами;
5. Описати механізм реакції аглютинації;
6. Описати механізм реакції преципітації.

Уміти:

1. Пояснити роль антигенів, як індукторів імунної відповіді;
2. Описати структуру антитіл (різних класів імуноглобулінів);
3. Проаналізувати механізм взаємодії антитіл з антигенами;
4. Тракувати результати реакції аглютинації;
5. Тракувати результати реакції преципітації;
6. Аналізувати отримані результати.

Теоретичні питання:

1. Визначення поняття «антигени», «антитіла».
2. Роль антигенів як індукторів імунної відповіді.
3. Структура антитіл (різних класів імуноглобулінів).
4. Механізм взаємодії антитіл з антигенами.
5. Реакції імунітету, їх роль в імунній відповіді і діагностиці інфекційних хвороб. Механізм реакції аглютинації і реакції преципітації.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Постановка реакції аглютинації для виявлення антитіл в сироватці хворого.

2. Постановка реакції мікроаглютинації на склі з діагностичними сироватками для ідентифікації чистої культури бактерій.
3. Оцінка результатів реакції аглютинації.
4. Постановка реакції преципітації для виявлення антигена бактерій.
5. Оцінка результатів реакції преципітації.
6. Оцінка результатів реакції непрямої гемаглютинації.
7. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.
2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Мікробіологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.
3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691 с.
5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.
3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з:

- а) постановки реакції аглютинації для виявлення антигену в сироватці хворого і оцінки результатів реакції;
- б) постановки реакції мікроаглютинації на склі і оцінки результатів реакції;
- в) постановки реакції преципітації і оцінки результатів реакції;
- г) оцінки результатів реакції непрямої гемаглютинації.

Після аналізу результати реакцій записують в протокол.

В кінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. На шкіряно-оброблювальний завод доставили шкіру тварин з району, де реєструється сибірська виразка. Яка з приведених реакцій викорис-

товується для виявлення термостабільного антигена збудника сибірської виразки в шкіряній і хутрянній сировині?

- A. РА В. РЗК С. РП D. РН E. РГА

2. При дослідженні імунологічного стану визначається наявність в сироватці всіх класів імуноглобулінів. Яких з перерахованих імуноглобулінів зустрічається більше в сироватці здорової людини?

- A. IgA В. IgD С. IgG D. IgE E. IgM

3. На базарі громадянин А. продав ковбасу під назвою «свина домашня». У держсанінспекції виникла підозра на фальсифікацію ковбаси. За допомогою якої серологічної реакції імунітету можна ідентифікувати харчовий продукт?

- A. РЗК В. РНГА С. Преципітації
D. РА E. Імунофлюоресценції

4. З метою серологічної діагностики кашлюку поставлена реакція з кашлюковим і паракашлюковим діагностикумами. На дні пробірок, в які був внесений діагностикум з *Bordetella pertussis*, утворився зернистий осад. Які антитіла виявила ця реакція?

- A. Антитоксини В. Опсоніни С. Аглютиніни
D. Преципітини E. Бактеріолізینی

5. Щоб визначити токсигенність виділених від пацієнтів збудників дифтерії, культури висівали на чашку Петрі з живильним середовищем з двох сторін від розташованого в центрі смужки фільтрувального паперу, змоченого протидифтерійною антитоксичною сироваткою. Після інкубації посівів в агарі між окремими культурами і смужкою фільтрувального паперу виявлені ділянки помутніння середовища. Яку серологічну реакцію було проведено?

- A. Преципітації в гелі В. Кумбса С. Аглютинації
D. Кольцепреципітації E. Опсонізації

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Постановка реакції аглютинації для виявлення антитіл в сироватці хворого.

2. Оцінка результатів реакції аглютинації.

3. Постановка реакції мікроаглютинації.

4. Оцінка результатів реакції мікроаглютинації на склі.

5. Постановки реакції преципітації.

6. Оцінка результатів реакції преципітації.

7. Оцінка результатів реакції непрямой гемаглютинації.

8. Запис схем реакцій і висновків у протокол.

9. Оформлення протоколу.

10. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 17

Тема: Реакції імунітету: реакція зв'язування комплекменту, реакція лізису.

Мета: Оволодіння технікою постановки реакції зв'язування комплекменту і реакції лізису.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 5. Реакції імунітету.

Тема заняття 17. Реакція зв'язування комплекменту. Реакція лізису.

Актуальність теми. Не дивлячись на значну кількість загальноприйнятих методів діагностики, більшість з них за точністю, надійністю і чутливістю не повною мірою відповідають сучасним вимогам. Це пов'язано з біологічними особливостями ряду збудників, що обмежує застосування бактеріологічних і вірусологічних методів, і примушує дослідників вести розробку нових ефективніших діагностичних методів.

У зв'язку з цим останніми роками розроблений ряд імунологічних тестів, які відрізняються високою чутливістю і специфічністю, а також швидкістю отримання результату. До таких досліджень відносяться полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), імуноферментний аналіз, реакція імуноблотінга, імунохроматографічний аналіз і ін. Успіх серологічної діагностики залежить від специфічності реакції і дотримання умов узяття крові за часом, необхідних для синтезу організмом антитіл.

Взаємодія антигена з антитілом викликає ряд строго специфічних явищ у вигляді феноменів, доступних для спостереження в пробірках і що знайшли практичне застосування в лабораторній діагностиці у вигляді імунологічних реакцій.

Широке застосування в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб мають, на ряду з іншими, класичні реакції: реакція зв'язування комплекменту, реакція лізису.

Реакції імунітету використовуються при діагностичних і імунологічних дослідженнях у хворих і здорових людей. З цією метою застосовують серологічні дослідження (від лат. serum - сироватка + logos - учення) - методи вивчення антитіл і антигенів за допомогою реакцій антиген-антитіло в сироватці крові і інших рідинах, а також тканинах організму.

До основних серологічних реакцій відносяться реакції аглютинації, преципітації, лізису, нейтралізації, реакції за участю комплекменту, з використанням мічених антитіл і антигенів (радіоімунологічний, імуноферментний, імунофлюоресцентний). Перераховані реакції відрізняються по

реєстрованому ефекту і техніці постановки, проте всі вони засновані на реакції взаємодії антигена з антитілом і застосовуються як для виявлення антитіл, так і антигенів.

Реакції за участю комплементу засновані на активації комплементу в результаті приєднання його до антитіл, що знаходяться в комплексі з антигеном.

Реакцію зв'язування комплементу (РЗК) проводять у дві фази:

1-а фаза - інкубація суміші шуканого антигена (або антитіла) з діагностичною сироваткою (або антигеном-діагностикомом) і комплементом;

2-а фаза - індикаторна - визначення наявності в суміші вільного комплементу додаванням гемолітичної системи, що складається з еритроцитів барана і гемолітичної сироватки, що містить антитіла до еритроцитів барана. У 1-ій фазі реакції при утворенні комплексу антиген-антитіло відбувається зв'язування ним комплементу, в 2-ій фазі гемоліз сенсибілізованих антитілами еритроцитів відсутній (реакція позитивна). При негативній реакції, якщо антиген і антитіло не відповідають один одному, комплемент залишається вільним і в 2-ій фазі реакції він приєднується до комплексу еритроцит-антиеритроцитарне антитіло гемолітичної сироватки, викликаючи гемоліз.

РЗК застосовують для діагностики багатьох інфекційних хвороб, зокрема сифілісу (реакція Вассермана).

Реакцією лізису називається розчинення антигена, сполученого з антитілами, у присутності комплементу. Лізини (антитіла, що беруть участь в реакції) проявляють дію тільки у присутності комплементу.

Специфічні антитіла взаємодіють з різними клітинами, зокрема бактеріями і найпростішими, що приводить до активації системи комплементу за класичним шляхом і подальшого лізису клітин. Серед них відомі реакції вібріолізу і реакції гемолізу.

Більшість мікроорганізмів, за винятком холерного вібріона і трепонем, стійкі до літичної дії антитіл. Тому реакція лізису не знайшла широкого застосування в лабораторній практиці.

Реакцію лізису використовують як індикаторну систему в реакції зв'язування комплементу.

Для постановки реакції лізису і РЗК використовують комплемент, який міститься в сироватці крові морських свинок.

Конкретні цілі:

1. Пояснити цінність реакції зв'язування комплементу (РЗК) в діагностиці інфекційних хвороб.
2. Пояснити інгредієнти, необхідні для постановки РЗК.
3. Пояснити механізм РЗК.
4. Пояснити облік РЗК.

5. Відзначити особливості реакції Вассермана при сифілісі і РЗК в модифікації Фізе при рикетсіозах).

6. Пояснити реакцію бактеріоліза (феномен Ісаєва-Пфейфера).

Уміти:

1. Поставити РЗК.
2. Пояснити механізм РЗК.
3. Провести облік реакції.
4. Пояснити феномен Ісаєва-Пфейфера.

Теоретичні питання:

1. Суть РЗК. Необхідність використання індикаторної системи.
2. Характеристика і підготовка інгредієнтів РЗК.
3. Механізм РЗК.
4. Практичне використання РЗК, реакції бактеріоліза.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Титрація комплементу для РЗК за допомогою реакції гемолізу (титр комплементу, робоча доза).

2. Постановка РЗК.
3. Облік РЗК.
4. Вивчення реакції бактеріоліза Ісаєва-Пфейфера (за таблицею).
5. Оформлення протоколу.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.

2. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота полягає в:

а) постановці реакції зв'язування комплементу, оцінці результатів реакції;

б) розборі реакції бактеріоліза Ісаєва-Пфейфера (за таблицею).

Після аналізу результати реакцій записують в протокол.

В кінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Гемолітична сироватка проти еритроцитів барана необхідна для роботи в лабораторії, де проводиться серологічна діагностика інфекційних хвороб. Для чого її використовують?

А. Для визначення видової приналежності еритроцитів в судово-медичній експертизі

В. Для реакції непрямой гемаглютинації

С. Для діагностики гемолітичної хвороби новонароджених при резус-конфлікті

Д. Для реакції гальмування гемаглютинації

Е. Как компонент гемолітичної системи в реакції зв'язування комплементу

2. Для серологічної діагностики сифілісу з використанням реакції Вассермана лікар-лаборант підготував наступні реактиви: кардіоліпіновий антиген; спиртовий екстракт ліпідів з серцевого м'яза бика з холестерином; антиген з трепонем, зруйнованих ультразвуком; гемолітичну систему; ізотонічний розчин натрію хлориду; досліджувані сироватки. Який ще компонент необхідний для постановки цієї реакції?

А. Еритроцити барана

В. Антиглобулінова сироватка

С. Комплемент

Д. Живі трепонеми

Е. Діагностична преципітуюча сироватка

3. В жіночу консультацію прийшла жінка на 8 тижні вагітності. При обстеженні у неї узяли кров для перевірки на наявність специфічних антитіл до трепонем. Які з перерахованих нижче серологічних реакцій можуть бути використані для виявлення антитіл до трепонем?

А. Шкірна проба Манту

В. Реакція Райта

С. Реакція Відаля

Д. Шкірна проба Бюрне

Е. Реакція Вассермана

4. В дермато-венерологічному диспансері з метою діагностики сифілісу застосовується реакція Вассермана. До якого з приведених типів реакцій вона належить?

А. РА

В. РП

С. РЗК

Д. РН

Е. РГА

5. При додаванні гемолітичної (індикаторної) системи до пробірок з бактерійною системою в останніх відбувся гемоліз. Про яку реакцію йде мова в даному випадку?

А. РГА

В. РА

С. РЗК

Д. РН

Е. РП

6. При постановці РЗК в пробірці з досліджуваною сироваткою хворого в системі утворився комплекс антиген-антитіло-комплемента, не визначуваний візуально. Яким чином можна виявити цей комплекс антиген-антитіло-комплемента?

- A. Використовуючи індикаторну тест-систему
- B. Заразивши кролика
- C. Додавши 3%-у суспензію еритроцитів
- D. Додавши гемолітичну сироватку
- E. Додавши фізіологічний розчин

7. При постановці РЗК з сироваткою хворого з підозрою на хронічну гонорею, вона виявилася позитивною на 4 хрести у всіх розведеннях сироватки (від 1:5 до 1: 160). Як можна визначити візуально феномен позитивної РЗК на 4 хрести?

- A. Наявність осаду і безбарвної надосадової рідини
- B. Утворення плівки
- C. Утворення «парасольки»
- D. Утворення «гудзичка»
- E. Утворення пластівців

8. Відомо, що на кожен збудник хвороби в організмі людини утворюються антитіла: аглютиніни, преципітини, опсоніни, лізини, комплекси зв'язуючі та інші. У якій серологічній реакції можна виявити комплекси зв'язуючі антитіла?

- A. РА на склі
- B. РП в агарі
- C. РЗК
- D. РГА
- E. РНГА

9. Після проникнення в організм бактерії фагоцитуються макрофагами. Яку роль грають макрофаги в кооперації імунокомпетентних клітин на першому етапі формування імунної відповіді?

- A. Активують НК-клітини
- B. Активують Т-кілери
- C. Забезпечують процесинг і презентацію антигена Т-хелперам
- D. Продукують імуноглобуліни
- E. Забезпечують процесинг і презентацію антигена Т-кілерам

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Титрація комплексу для РЗК за допомогою реакції гемолізу (титр комплексу, робоча доза).
2. Постановка РЗК.
3. Оцінка результатів РЗК.
4. Вивчення бактеріолізу на прикладі реакції Ісаєва-Пфейфера (за таблицею).
5. Запис схем реакцій і висновків в протокол.
6. Оформлення протоколу.
7. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 18

Тема: Вчення про імунітет. Серологічні реакції з міткою.
Мета: Вивчити механізм постановки серологічних реакцій з мітками і полімеразної ланцюгової реакції для експрес-діагностики інфекційних захворювань.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 5. Реакції імунітету. Імунопатологія.

Тема заняття 18. Серологічні реакції з міткою. Полімеразна ланцюгова реакція.

Актуальність теми. Методи імунохімічного аналізу, засновані на специфічному зв'язуванні визначуваної сполуки відповідними антитілами, широко увійшли до аналітичної практики і використовуються в різних областях медицини, сільського господарства, мікробіологічної і харчової промисловості, для цілей охорони навколишнього середовища. Індикація комплексу, що утворюється, антиген-антитіло, може бути здійснена, якщо в один з початкових компонентів реакційної системи ввести мітку, яка легко детектується відповідним високочутливим фізико-хімічним методом. Вельми зручними для цієї мети виявилися ізотопні, ферментні, флуоресцентні, парамагнітні і ін. мітки, використання яких дало можливість збільшити чутливість класичних методів імунохімічного аналізу в мільйони разів, а час аналізу зменшити до декількох хвилин.

Історично першим серед них був радіоімунологічний аналіз (RIA), запропонований в кінці 50-х років минулого століття. Завдяки можливості визначати мітку, якою був ізотоп ^{125}I , в дуже малих концентраціях, вдалося досягти високої чутливості аналізу (на рівні пкг/мл).

Радіоімуний метод є найбільш інформативним, заснований на дослідженні характеру взаємодії антитіла з антигеном з утворенням імунного комплексу, в один з компонентів якого (антиген або антитіло) введена радіоактивна мітка. Найбільшого поширення набув метод конкуренції за специфічні антитіла міченого радіоактивним ізотопом антигена і такого ж антигена, але вільного від радіоактивної мітки, кількість якого необхідно визначити в досліджуваному біологічному середовищі. З цією метою в досліджувану рідину, в якій передбачається наявність антигена, додають відому кількість такого ж міченого антигена і стандартну кількість антисироватки з відповідними антитілами. Якщо в досліджуваній рідині відсутній шуканий специфічний антиген, то близько 70-80 % міченого антигена зв'язується з антитілами, обумовлюючи високу радіоактивність преципі-

тату, що утворюється. Якщо ж в біологічному середовищі присутній шуканий антиген, він конкурує з міченим антигеном і зв'язує частину антитіл. В результаті радіоактивність преципітату падає в порівнянні з контролем. На цьому принципі засновано кількісне визначення антигенів або антитіл. Оскільки мічений антиген додається в певній дозі, то можна визначити, яка його частина зв'язалася з антитілами, а яка залишилася не зв'язаною в результаті конкуренції з не міченим антигеном, що виявлявся. При певних концентраціях кількість міченого антигена, що зв'язався з антитілами, зворотно пропорційна до кількості визначуваного антигена. Після взаємодії антигенів із антитілами комплекси антиген - антитіло відокремлюють від вільного міченого антигена. Способи відділення: 1. Електрофорез; 2. Гель - фільтрації; 3. Фракційного осадження імунного комплексу етанолом і ін. Відокремивши мічений антиген від комплексу антиген - антитіло визначають кількість міченого антигена, що зв'язався в комплексі за кількістю імпульсів (сцинтиляційним лічильником). Зменшення кількості імпульсів в одиницю часу порівняно з відповідними контролюями свідчить про присутність гомологічного міченого антигена, пов'язаного з антисироваткою, внаслідок чого антиген не вступив у реакцію і не визначається в комплексі антиген - антитіло.

В середині 60-х років для ідентифікації і локалізації антигенів в гістохімічних препаратах і виявлення смуг преципітації в імунодифузних і імуноелектрофоретичних методах як високочутливу мітку було запропоновано використовувати молекули ферментів. Будучи за своєю природою могутніми хімічними каталізаторами, ферменти здатні ефективно здійснювати утворення продукту, що легко детектується, що робить можливим визначення ферментної мітки у вельми малих концентраціях.

Впродовж останніх трьох десятиліть імунферментні методи аналізу інтенсивно розвивалися як в теоретичному, так і практичному плані і до теперішнього часу вони сформувалися в самостійний науковий напрям, що має важливе прикладне значення. Найбільшого поширення набули гетерогенні методи імунферментного аналізу, засновані на використанні планшетів полістиролів для іmobilізації антитіл або антигенів, специфічному зв'язуванні визначуваної речовини на стінках лунок планшета і подальшому виявленні імуноконкомплексів, що утворилися, за допомогою мічених ферментами компонентів.

Імунферментний метод заснований на обліку реакції антиген-антитіло, причому як мітка, що дозволяє виявити імунний комплекс, використовують ферменти, наприклад пероксидазу, лужну фосфатазу. Одним із поширених варіантів теста ІФА є твердофазний метод «Сендвіч - метод»: спочатку на стінках полістиролових пробірок сорбують антитіла проти певного антигена. У цю ж пробірку вносять досліджуваний біологі-

чний зразок. Якщо там містяться шукані антигени, вони взаємодіють з антитілами і разом з ними фіксуються на стінках пробірки. Після цього в пробірку вводять антитіла до даного антигена, що містяться ферментом, які також приєднуються до імунного комплексу, що утворився, і залишаються на стінках пробірки. Для виявлення і кількісної оцінки цих комплексів в пробірку додають перекис водню (H_2O_2) і хромогени. Фермент (пероксидаза) розщеплює H_2O_2 з виділенням кисню. Останній окисляє хромоген, який набуває жовтого кольору. Інтенсивність фарбування і, відповідно, кількість шуканого антигена оцінюють фотометрично.

Етапи проведення ІФА:

1. Інокуляція біоматеріалу і реактивів у лунки планшетів полістиролової мікротест системи (на яких сорбовані антитіла проти певного антигена і ферменту).
2. Термостатування і струшування на шейкері для рівномірного перемішування реакційної суміші в лунках планшета.
3. Промивка лунок планшета на вошері (автоматичний промивник планшетів) - для відмивання субстанцій, що не зв'язалися (антитіл, кон'югата і ін.).
4. Додавання забарвленого субстрата (хромогена).
5. Реєстрація результату на рідері (спектрофотометрі, фотоколориметрі для визначення оптичної щільності досліджуваного розчину в лунках планшета).

Останніми роками для кількісного радіоімунного і імуоферментного визначення різних антигенів і антитіл в біологічних середовищах все частіше використовують так звані моноклональні антитіла. Останні отримують не шляхом імунізації тварин, а штучно, шляхом синтезу так званих моноклонів, тобто культури клітин, що походять із одного сенсibilізованого лімфоцита. Моноклональні антитіла відрізняються від звичайних антитіл, отриманих за допомогою класичної імунізації тварин, дуже високою специфічністю і реагують тільки на певний антиген.

Найпоширенішим тестом виявлення аутоантитіл в досліджуваній сироватці є реакція імуофлюоресценції (РІФ) - люмінісценція в ультрафіолетовому світлі мікроскопа біологічного об'єкту, що містить досліджуваний антиген після його попередньої обробки специфічними антитілами, міченими флюорохромом.

Суть методу полягає в тому, що локалізація антигена в препараті виявляється за специфічною флюоресценцією в місці реакції антиген - антитіло. Метод заснований на використанні явища люмінісценції для виявлення реакції антиген - антитіло, що відбувається на поверхні клітин або на зрізах тканини. При цьому антитіла, зв'язані з фарбником, наприклад флюоресцеїнізотіоціанатом. Велика перевага методу полягає в його прос-

тоді, високій чутливості, а так само в швидкості отримання результатів. Метод був запропонований в 1942 р. Кунсом. Специфічний білок мітять флюорохромами - це такі фарбники, які здатні поглинати світло і випромінювати його через короткий проміжок часу (10^{-6} - 10^{-9} сек). Інтенсивність флюоресценції пропорційна інтенсивності збуджуючого випромінювання, і при малих концентраціях речовини можливо кількісно визначити флюоресцируючу речовину на мікроскопічному або цитологічному препараті.

Механізм реакції: відбувається кон'югація білка з флюорохромом, яка є за своєю суттю хімічною реакцією, внаслідок чого утворюється нове з'єднання, в якому фарбник приєднується до білка ковалентним зв'язком. У реакції беруть участь в основному ϵ -аміногрупи лізину і кінцеві аміногрупи білкової молекули.

Метод застосовується в трьох основних модифікаціях:

1. При прямому методі (Кунс і Каплан) на препарат, що містить шуканий антиген, наносять специфічну люмінесцентну сироватку (антитіло). Після реакції препарат промивають і вивчають в люмінесцентному мікроскопі. Таким чином, реакція протікає одноетапно.

2. При непрямому варіанті РІФ (Уеллер і Кунс) розчин немічених антитіл наносять на зріз (тканина різних органів тварин, що містять відомі антигени), а потім виявляють їх за допомогою мічених флюорохромом антиімуноглобулінових антитіл.

3. Непрямий метод з комплементом (Гольдвассер, Шепард).

У сучасній медичній практиці з кожним роком зростає роль лабораторної діагностики як основного інструменту постановки діагнозу і моніторингу терапії. Одним з методів лабораторної діагностики, що бурхливо розвиваються і затребуваний, є імунохроматографічний аналіз (ІХА) - метод одноетапного швидкого якісного визначення наявності антитіл до збудників захворювань in-vitro в біологічних матеріалах (сеча, цілісна кров, сироватка або плазма крові, слина, кал і т.д.). Даний вид аналізу здійснюється за допомогою індикаторних смужок, паличок, панелей або тест-касети, яка забезпечує швидкість проведення тестування. ІХА - метод сухої імунохімії, стрип-тест, експрес-тест або експрес-аналіз. Ці назви пов'язані з швидкістю проведення цього методу аналізу.

Принцип дії ІХА за допомогою смужок полягає в тому, що при зануренні тесту у фізіологічну рідину вона починає мігрувати уздовж смужки за принципом тонкошарової хроматографії. Рухомою фазою в даному випадку є фізіологічна рідина. Разом з рідиною рухаються і антитіла з фарбником. Якщо в цій рідині присутній досліджуваний антиген (гормон, інфекційний або онкологічний маркер), то відбувається його зв'язування, як з першим, так і з другим типом антитіл, що є вже імунологічним методом

аналізу. При цьому відбувається накопичення антитіл з фарбником навколо антитіл, жорстко іміобілізованих в тест-зоні ІХА-смужки, що виявляється у вигляді яскравої темної смуги. Антитіла, що не зв'язалися, з фарбником мігрують далі уздовж смужки і неминуче взаємодіють з вторинними антитілами в контрольній зоні, де і спостерігається друга темна смуга. Взаємодія (і темна смуга) в контрольній зоні повинні виявлятися завжди (якщо аналіз проведений правильно), незалежно від присутності досліджуваного антигена у фізіологічній рідині. Результати визначаються візуально або комп'ютерною обробкою відсканованого зображення. У ІХА-тестах використовується три типи антитіл:

1. Розчинні моноклональні антитіла до досліджуваного антигена або антитіла, кон'юговані ("зшиті") з колоїдним золотом - фарбником, який можна легко ідентифікувати навіть в найменших концентраціях. Ці антитіла нанесені поблизу ділянки занурення тест-смужки у фізіологічну рідину (сечу, кров).

2. Поліклональні антитіла до досліджуваного антигена або антитіла, жорстко іміобілізовані в тест-зоні смужки.

3. Вторинні антитіла до моноклональних антитіл, жорстко іміобілізовані в контрольній зоні тест-смужки.

Принцип дії ІХА за допомогою тест - касет, полягає в тому, що досліджуваний зразок абсорбується поглинаючою ділянкою планшета. За наявності в аналізованому зразку антитіл до збудника захворювання останні вступають в реакцію з протеїном А, кон'югованим з частинками колоїдного золота, утворюючи забарвлений комплекс. Цей комплекс рухається по мембрані і зв'язується з рекомбінантним антигеном, іміобілізованим на мембрані в тестовій зоні планшета, утворюючи смужку рожево-фіолетового кольору на рівні маркіровки Т (Test). Решта компонентів утворює смужку рожево-фіолетового кольору в тестовій зоні на рівні маркіровки С (Control). Результати реакції оцінюються візуально протягом 10 хвилин. У тому випадку, коли концентрація антитіл до збудника захворювання в аналізованому зразку сироватки крові рівна пороговому рівню або перевищує його, в тестовій зоні виявляються дві смужки рожево-фіолетового кольору на рівні маркіровок Т і С.

Високочутливим методом, заснованим на поєднанні електрофореза і ІФА (або РІА) є імуноблотинг (Вестерн-блотинг) за допомогою якого проводиться ідентифікація досліджуваних антитіл після електрофоретичного розділення їх і подальшого тестування за допомогою мічених антивидових антитіл.

Імуноблот з ІФА. Фірми випускають комерційні смужки з «блотами» антигенів. На ці смужки наносять сироватку хворого. Потім після інкубації, відмивають від антитіл хворого, що не зв'язалися, і наносять сироват-

ку проти імуноглобулінів людини, мічену ферментом. Комплекс [антиген + антитіло хворого + антитіло проти Ig людини], що утворився на смужці, виявляють додаванням хромогенного субстрата, що змінює забарвлення під дією ферменту.

За наявності в досліджуваній сироватці крові специфічних антитіл до індивідуальних білків збудника утворюється видимий преципітат. Позитивні реакції виглядають у вигляді ІФА - плям, кожне з яких відповідає дискретній парі антиген - антитіло. Єдина пляма дозволяє засумніватися в справжності результату.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) - це ампліфікація (ампліфікація - ізольоване множення гена або його фрагмента) специфічних послідовностей нуклеїнових кислот, за допомогою якої протягом декількох годин можна розмножити потрібну послідовність в мільйони разів. ПЛР дозволяє здійснити таку ампліфікацію в пробірці за допомогою ферменту термостабільної ДНК-полімерази з 4-дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, що є структурними елементами будь-якої ДНК, і коротких олігонуклеотидних 20-30-членних приманок (праймерів), комплементарних 3'-кінцевим послідовностям антипаралельних ланцюгів ДНК гена.

ПЛР заснована на принципі природної реплікації ДНК. Суть методу полягає в багатократному повторенні циклів синтезу специфічної послідовності ДНК за допомогою термостабільної Taq ДНК-полімерази і двох специфічних приманок - так званих праймерів. Кожен цикл складається з трьох стадій з різним температурним режимом. У кожному циклі подвоюється число копій ділянки, що синтезується. Знов синтезовані фрагменти ДНК служать як матриця для синтезу нових ниток в наступному циклі ампліфікації, що дозволяє за 25-35 циклів напрацювати достатнє число копій вибраної ділянки ДНК для її визначення, як правило, за допомогою електрофореза в агарозному гелі. Метод високоспецифічний і дуже чутливий. Він дозволяє виявити декілька копій ДНК в досліджуваному матеріалі. Даний метод заснований на виявленні в досліджуваному зразку специфічного фрагмента ДНК збудника і на принципі природної реплікації ДНК, що включає розплітання подвійної спіралі ДНК, розділення ниток ДНК і комплементарне добудовування обох ниток.

Переваги:

1. Висока чутливість, що дозволяє виявити навіть одиничні клітини збудника, незалежно від їх природи за 1-2 години.
2. Висока специфічність - виявляється характерний тільки для даного збудника фрагмент ДНК.
3. Швидкість отримання результату - процес займає 3-4 години.

4. Використання при визначенні збудника безпосередньо клінічного матеріалу, без спеціального виділення чистої культури збудника і його підрощування.

5. Діагностика не тільки свіжих, але і хронічних форм інфекцій. Метод ефективний при діагностиці важко культивованих і персистуючих форм патогенних мікроорганізмів.

6. Можливість виділення ДНК не тільки живих, але і убитих мікроорганізмів.

Стадії методу ПЛР:

I. Виділення ДНК збудника з біологічного матеріалу.

II. Ампліфікація ДНК (багатократне копіювання специфічного фрагмента ДНК) - проводиться в термоциклерах «Терцик - Україна» - спеціальний прилад з певним температурним режимом для проведення циклів ПЛР, кожен з яких складається з 3-х етапів:

1. Денатурація - нагрівання реакційної суміші до 93-95 °С, внаслідок чого двухцепочечні молекули ДНК розплітаються з утворенням двох одноцепочечних молекул.

2. Відпал (приєднання) - за наявності шуканої ДНК-мішені праймери відпалюються (приєднуються) до ДНК-мішені при температурі 60 °С. Відпал відбувається відповідно до правила комплементарності Чаргаффа (напроти аденіна завжди знаходиться тимін, а напроти гуаніна - цитозін). Коли відпал праймерів відбувся, Таq-полімераза починає добудовування другого ланцюга ДНК.

3. Синтез (елонгація) - доводять температуру в реакційній суміші до оптимуму роботи ферменту (72 °С). Синтез другого ланцюга продовжується з максимальною ефективністю. Надалі етап денатурації, відпалу і елонгації багато разів повторюються - до 30 і більше разів. На кожному температурному циклі кількість синтезованих копій фрагмента ДНК подвоюється. Таким чином, даний метод заснований на здатності ДНК-полімерази добудовувати одноцепочечну ДНК з утворенням двухцепочечної молекули.

Праймери - короткі молекули ДНК, що штучно синтезуються, ідентичні відповідним ділянкам ДНК-мішені. Таq-полімераза - фермент, що забезпечує добудовування другого ланцюга ДНК

III. Детекція продуктів ампліфікації. Продукти ПЛР (амплікони) ідентифікують за допомогою гелю-електрофореза і результат реакції враховують за свіченням шуканої ДНК збудника в УФ світлі за допомогою приладу - транслюмінатора.

Конкретні цілі:

1. Пояснити переваги застосування серологічних реакцій з мітками як експрес - методів діагностики інфекційних захворювань;

2. Пояснити суть реакцій і механізм проведення серологічних реакцій з мітками;

3. Проаналізувати механізм проведення імуноферментного аналізу і порівняти з імунохроматографічним аналізом;

4. Порівняти переваги і недоліки ІФА і ІХА;

5. Описати механізм проведення полімеразної ланцюгової реакції ;

6. Вивчити етапи проведення ПЛР;

7. Перерахувати переваги ПЛР.

Уміти:

1. Пояснити необхідність проведення серологічних реакцій з мітками;

2. Описати етапи проведення реакцій з мітками;

3. Проаналізувати механізм проведення РІА, ІФА і ІХА;

4. Трактувати результати серологічних реакцій з мітками;

5. Трактувати результати ПЛР;

6. Аналізувати отримані результати.

Теоретичні питання:

1. Визначення поняття «Серологічні реакції з мітками».

2. Реакція імунофлюоресценції. Механізм, компоненти, застосування.

3. Імуноферментний аналіз, імуноблотінг. Механізм, компоненти, застосування.

4. Механізм проведення радіоімуного аналізу.

5. Імунохроматографічний аналіз. Принцип проведення.

6. Механізм полімеразної ланцюгової реакції. Етапи проведення.

Облік.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Розбір схеми постановки ІФА.

2. Розбір схеми постановки ІХА.

3. Оцінка результатів реакцій.

4. Розбір схеми постановки імуноблотінга.

5. Розбір схеми постановки РІА і РІФ.

6. Оцінка результатів реакцій.

7. Розбір схеми постановки ПЛР.

8. Оформлення протоколу.

Література:

1. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000.– 592с., с ил.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник /Под ред. А.А. Воробьева.– М.: МИА, 2004.– 691с.: ил.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.П. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768с.

4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология /Учебник для медицинских ВУЗов, С-Пб.: «Специальная литература», 1998. - 592с.

5. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов /Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова.– М.: МИА, 2003.– 236с.: ил.

6. Сучасні методи лабораторної діагностики інфекційних захворювань: Навч. посібник /За ред. акад. А.Я. Циганенка. Харків: Вид-во “Основа”, 2003.– 88 с.

7. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: М.: Медицинское информационное агенство, 2001. – 736 с.

2. Вершигора А.Е. Общая иммунология. - К.: Вища шк., 1990. - 635 с.

3. Воробьев С.М., Северина Т.А. Создание иммуноферментной системы для определения гликопротеинов с использованием моноклональных антител // Биотехнология. - 1991.- № 4.- С. 82 - 85.

4. Егоров А.М., Осипов А.П. Теория и практика иммуноферментного анализа. - М.: Высшая шк., 1991. - 288 с.

5. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология: Руководство для врачей. - СПб: Питер, 2001. - 576с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з розбору схеми постановки ІФА, ІХА, імуноблотинга, ПЛР і оцінки результатів реакції.

Після аналізу результати реакцій записують в протокол.

В кінці заняття проводиться оформлення протоколу, тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Для виявлення антитіл до збудника сифілісу лікар-лаборант використовував тест-касети набору для проведення імуно-хроматографічного аналізу. Враховуючи результат через 10 хв, лікар виявив одну смужку рожево-фіолетового кольору на рівні маркіровки С (контроль). Про що свідчить отриманий результат?

А. Про негативний результат аналізу

В. Про позитивний результат аналізу

С. Про хибнопозитивний результат

Д. Про хибнонегативний результат

Е. Необхідно провести додатковий тест або повторити ІХА

2. При постановці реакції прямої флюоресценції використовують:

- A. Помічені флюорохромом антитіла до досліджуваного антигена
 - B. Непомічені антитіла до досліджуваного антигена
 - C. Помічені флюорохромом антигени
 - D. Непомічені флюорохромом антигени
 - E. Гемолітичну систему
3. При постановці реакції непрямой флюоресценції використовують:
- A. Помічені флюорохромом антиімуноглобуліни
 - B. Помічені флюорохромом антитіла до досліджуваного антигена
 - C. Непомічені антитіла до досліджуваного антигена
 - D. Помічені флюорохромом антигени
 - E. Непомічені флюорохромом антигени
4. Як маркер при ІФА можна використовувати:
- A. Лужну фосфатазу
 - B. Каталазу
 - C. Супероксиддисмутазу
 - D. Лізоцим
 - E. Комплемент
5. Специфічну діагностику яких захворювань забезпечує ПЛР?
- A. Венерічних захворювань
 - B. Захворювань, що викликаються ДНК-вмісними вірусами
 - C. Бактеріальних інфекцій
 - D. ВІЛ-інфекції
 - E. Всіх перерахованих захворювань
6. При прямій імунофлюоресцентній ідентифікації специфічного інфекційного агента флюорохром пов'язаний з:
- A. Мікроорганізмами (досліджуваним антигеном)
 - B. Еритроцитами барана
 - C. Специфічними антитілами до людського Ig
 - D. Специфічними антитілами до комплементу
 - E. Специфічними антитілами до мікроорганізму
7. Детекцію ДНК проводять за допомогою:
- A. Електрофореза в гелі, свічення в УФ транслюмінаторі
 - B. Ампліфікації специфічного фрагмента ДНК
 - C. Денатурації ДНК
 - D. Елонгації ДНК
 - E. Відпала праймерів

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Розбір схеми постановки ІФА і оцінка результатів реакції.
2. Розбір схеми постановки ІХА і оцінка результатів реакції.
3. Розбір схеми постановки імуноблотинга і оцінка результатів реакції.
4. Розбір схеми постановки РІФ і РІА і оцінка результатів реакції.
5. Розбір схеми постановки ПЛР.
6. Запис схем реакцій і висновків в протокол.
7. Оформлення протоколу.
8. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 19

Тема: Імунні сироватки. Реакція нейтралізації. Титрування антитоксичних сироваток.

Мета: Вивчення імунобіологічних препаратів, які використовують з лікувальною, профілактичною і діагностичною метою. Освоєння методики постановки реакції флокуляції для титрування антитоксичних сироваток.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 5. Реакції імунітету. Імунопатологія.

Тема заняття 19. Імунні сироватки. Реакція нейтралізації. Титрування антитоксичної сироватки.

Актуальність теми. Імунні сироватки - це імунобіологічні препарати, що містять готові антитіла, які мають здатність нейтралізувати дію патогенних мікроорганізмів і продукти їх життєдіяльності. Імунні сироватки використовують з лікувальною, профілактичною (для отримання пасивного імунітету) і діагностичною метою.

Імунні сироватки, що містять специфічні антитіла, отримують шляхом багатократної імунізації (гіперімунізації) коней. На початку тваринам підшкірно вводять невеликі дози антигена, які поступово збільшують. Імунізацію припиняють після того, як тварини перестають реагувати збільшенням титру антитіл на повторне введення антигена.

Після припинення імунізації (через 10-12 днів) проводять кровопускання. З крові отримують сироватку. Для видалення баластних білків (які мають токсичну і алергічну дію) розроблені методи очищення сироваток за допомогою сульфату амонія, електрофореза, ферментативного гідролізу і ін.

Імунні сироватки, отримані з крові тварин, називають гетерологічними, а з крові людей - гомологічними. За спрямованістю дії сироватки розділяють на антитоксичні (протидифтерійна, протиправцева, протиботулінова і ін.), антибактеріальні і противірусні (імуноглобуліни).

Антитоксичні сироватки випускають з певним вмістом антитоксинів, силу яких вимірюють в міжнародних одиницях (МО) або в антитоксичних одиницях (АО). Для визначення сили дії антитоксичних сироваток використовують феномен флокуляції.

Титрування антитоксичних сироваток проводять двома методами: за Рамоном і за Ерліхом.

Імуноглобуліни отримують з донорської, плацентарної або абортівної крові людини, а також з сироваток гіперімунізованих тварин. Імуноглобуліни людини менш реактогенні, а тому максимально нешкідливі; після введення циркулюють довше гетерологічних (4-5 тижнів). Існує два види імуноглобулінів - нормальний (або протикоровий) і імуноглобуліни направленої дії (протигрипозний, антирабічний і ін.).

При введенні сироваток можуть виникати алергічні реакції, такі як гіперчутливість негайного типу (ГНТ). ГНТ обумовлена взаємодією алергену з IgE, який сорбований на мембранах тучних клітин і базофілів, що приводить до вивільнення гістаміну, серотоніну, еозинофільних і базофільних хемотаксичних чинників і протеаз. Медіатори взаємодіють з рецепторами м'язових, секреторних і інших клітин, що веде до скорочення гладкої мускулатури, збільшення проникності судин і набряку.

Для попередження анафілактичних реакцій сироватки вводять дрібно за методом Безредка.

Сироваткова хвороба розвивається через 8-12 діб після введення сироватки і обумовлена утворенням імунних комплексів, які фіксуються в тканинах. У нормі комплекси антиген-антитіло елімінуються фагоцитами. Коли комплекси утримуються в тканинах, то вони викликають реакції запалення. Макрофаги і нейтрофіли виділяють протеолітичні ферменти і інші медіатори запалення, які і ушкоджують тканини.

Діагностичні сироватки використовують в серологічних реакціях для визначення невідомого антигена.

В даний час широко використовують моноклональні антитіла, тобто ті антитіла, які синтезуються одним клоном антитілоутворюючих клітин, тобто клітин, які виникли з одного і того ж зрілого В-лімфоцита. Вони впізнають тільки один антиген і взаємодіють тільки з ним. Виникнення в організмі моноклональних антитіл було виявлене при розвитку лімфоїдних пухлин (плазмоцидом). В цьому випадку в організмі хворого відбувається розмноження одного клона лімфоцитів. Штучне отримання клітин-продуцентів моноклональних антитіл стало можливим після розробки методики отримання клітинних гібридів - гібридом. Гібридома - це гібрид нормальної антитілоутворюючої і пухлинної клітин. Такий гібрид успадкував від нормальної клітини здатність до синтезу антитіл, а від пухлинної - безсмертя і здатність до необмеженого зростання.

У 1975 році Г. Келер і К. Мільштейн здійснили злиття лімфоцитів селезінки миші, імунізованої баранячими еритроцитами, з культивованими клітинами мієломи і визначили, що деякі гібридами секретують антитіла до баранячих еритроцитів. Для отримання гібридом були використані такі штами мієломних клітин, які не містять фермент гіпоксантинфосфорібозилтрансферази і тому гинуть в селективному середовищі - ГАТ (що міс-

тять гіпоксантин, аміноптерин і тимідин); лімфоцити в такому середовищі не гинуть. Гібридами, що виникають при злитті клітин, успадковують від В-лімфоцитів здатність до синтезу специфічних імуноглобулінів і здатність розмножуватися в селективному середовищі ГАТ, а від мієломної клітини - здібність до нескінченного розмноження.

Процес отримання гібридом включає наступні стадії:

1. Отримання лінії мієломних клітин. Частіше з цією метою застосовують мишачі або щурачі клітинні лінії;
2. Отримання імунних В-лімфоцитів (антитілоутворюючих клітин) з селезінки імунізованих відповідним антигеном тварин;
3. Виділення гібридом і відбір з них клона, що цікавить;
4. Накопичення клітин отриманого клона для його практичного використання.

Перевагою гібридом є те, що за їх допомогою можливе отримання необмеженої кількості антитіл, які зберігають свою специфічність і чутливість. Моноклональні антитіла широко використовують для визначення білків крові і інших біологічних рідин, гормонів, ростових чинників, клітинних рецепторів, медіаторів запалення і імунітету, бактерійних і вірусних антигенів, різних отрут і ін. Моноклональні антитіла, завдяки своїй високій специфічності, стандартності і технологічності отримання витісняють і замінюють імунні сироватки.

Конкретні цілі:

1. Ознайомлення з етапами отримання антитоксичних сироваток у виробничих умовах.
2. Ознайомлення з принципами і стадіями отримання гамаглобулінів.
3. Ознайомлення з принципами постановки реакції нейтралізації і титруванням антитоксичних сироваток.
4. Ознайомлення з механізмом алергічних реакцій і сироваткової хвороби, які виникають на введення сироваток.

Уміти:

1. Проводити реакцію нейтралізації.
2. Проводити розрахунок титру сироватки в поставленому досвіді.

Теоретичні питання:

1. Класифікація імунних сироваток.
2. Лікувальні і профілактичні сироватки і їх застосування.
3. Діагностичні сироватки і їх застосування в серологічних реакціях.
4. Отримання імунних сироваток від тварин і людей.
5. Отримання гамаглобулінів.
6. Антитоксини. Механізм їх дії.
7. Титрування антитоксичних сироваток.

8. Класифікація реакцій гіперчутливості.
9. Ускладнення, які можуть виникати при введенні імунних сироваток. Механізм їх виникнення.

10. Отримання моноклональних антитіл.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Постановка реакції флокуляції для титрування антитоксичної сироватки (дифтерійної) за схемою.
2. Облік реакції.
3. Оформлення протоколу (запис схеми постановки реакції і обчислення титру сироватки).

Література:

1. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.
2. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691с.
4. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з проведення реакції нейтралізації для визначення титру антитоксичної сироватки за Рамоном. Для цього в пробірках (*in vitro*) використовують токсин і сироватку, яка містить антитіла до цього токсину. При їх змішуванні утворюється легке помутніння, потім з'являється дрібна суспензія, яка в кінці осідає на дно пробірки. Осад називається флокулянт, тому реакція називається реакція флокуляції. Помутніння, перш за все, з'являється в тій пробірці, де кількість токсину еквівалентна кількості антитіл. Ця особливість була використана у виробництві антитоксичних сироваток для визначення кількості антитоксичних (міжнародних) одиниць в 1 мл виготовленої сироватки.

За 1 МО приймають ту найменшу кількість сироватки, яка може нейтралізувати 100 смертельних доз токсину (100 Dlm).

В кінці лабораторної роботи студенти проводять аналіз результатів реакції і вносять їх до протоколу.

Цільові навчальні завдання:

1. Хворій дифтерією дитині віком 10 років була введена велика доза протидифтерійної сироватки. На 10 добу після введення сироватки у неї підвищилася температура до 38,5 °С, з'явився висип на шкірі, свербіння, набряклість і біль в суглобах. Вкажіть причину виникнення даних симптомів.

- A. Анафілактична реакція
- B. Алергійний дерматит
- C. Сироваткова хвороба
- D. Дія ендотоксину збудника
- E. Крапивниця

2. При практичному використанні лікувальних антитоксичних сироваток хворому завжди вводять точно певні дози. У яких одиницях визначається активність антитоксичної протидифтерійної сироватки?

- A. Міжнародних
- B. Флокуляційних
- C. Летальних
- D. Бактеріостатичних
- E. Інфекційних

3. Хлопчик 1,5 років, що не отримував планові щеплення контактував з хворим на кір. З метою екстреної специфічної профілактики хлопчикові був введений донорський гама-глобулін. Який вид імунітету було створено при цьому?

- A. Пасивний.
- B. Антитоксичний.
- C. Природний.
- D. Поствакцинальний.
- E. Місцевий.

4. Жінка, 54 років, звернулася до лікаря зі скаргами на нестерпність курячих яєць, яка з'явилася недавно. Антигістамінні препарати, призначені лікарем, дещо поліпшили стан хворої. Які антитіла сприяють розвитку даної реакції?

- A. IgA
- B. IgM
- C. IgD
- D. IgG
- E. IgE

5. У жінки, 37 років, протягом року періодично виникали інфекційні захворювання бактерійного генеза. Хвороба була тривала, ремісії короткочасні. При обстеженні виявлена гіпогаммаглобулінемія. Порушення функції яких клітин може бути прямою її причиною?

- A. Нейтрофілів
- B. Еозинофілів
- C. В-лімфоцитів
- D. Макрофагів
- E. Базофілів

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Визначення поняття "Імунні сироватки", їх класифікація.
2. Ознайомлення з прикладами застосування сироваток для профілактики, лікування і діагностики.
3. Методи отримання імунних сироваток, гаммаглобулінів і моноклональних антитіл.
4. Визначення титру антитоксичної сироватки в реакції нейтралізації.
5. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 20

Тема: Вакцини. Вчення про фагоцитоз.

Мета: Вивчення імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики. Вивчення ролі клітинних чинників захисту організму від інфекційних агентів.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунітет.

Змістовний модуль 5. Реакції імунітету. Імунопатологія.

Тема заняття 20. Вакцини. Вчення про фагоцитоз.

Актуальність теми. У загальному аспекті протиепідемічних заходів велике значення надається профілактиці інфекційних захворювань. Вакцини - це імунобіологічні препарати, які призначені для створення активного специфічного імунітету. Крім того вакцини можуть бути використані для лікування інфекційних хвороб. Початком вакцин, що діє, є специфічний антиген. Як антиген використовують живі мікроорганізми (бактерії, віруси); інактивовані мікроорганізми; виділені з мікроорганізмів специфічні, так звані протективні, антигени; токсини, які виділяють мікроби; хімічно синтезовані антигени, аналогічні природним; антигени, отримані за допомогою генної інженерії.

Вакцини повинні бути: 1) безпечними - не викликати захворювання, поствакцинальні реакції і ускладнення; 2) імуногенними - викликати розвиток надійного і тривалого імунітету; 3) стандартними - містити рівну кількість імуногенної речовини в одиниці об'єму. Вакцини вводять в організм внутрішньом'язово, на шкіру, підшкірно, внутрішньошкірно, перорально, через слизову оболонку носа і зіву. Активний імунітет створюється через 10-12 діб після введення вакцини.

Розрізняють наступні вакцини: з живих ослаблених мікроорганізмів, з інактивованих (убитих) мікроорганізмів, хімічні, анатоксини, субкомпонентні, генно-інженерні, синтетичні, антиідиотипічні і ДНК-вакцини.

Живі вакцини. Першу живу вакцину використовував Е. Дженнер у 1796 році. Він показав, що щеплення людям збудника коров'ячої віспи оберігає їх від зараження натуральною віспою.

Живі вакцини готують з ослаблених (атенуйованих) штамів мікроорганізмів. Атенуйованими називають штами, які під впливом тих або інших чинників втратили вірулентність, але зберегли імуногенність. Вакцинні штами отримують шляхом селекції, в умовах підвищеної температури, дією бактеріофагів, антибіотиків, пасажами через тварин і несприят-

ливі живильні середовища. До живих вакцин відносять віспяну, поліомієлітну (вакцину Себіна), грипозну, БЦЖ, туляремічну, бруцельозну.

Живі вакцини створюють триваліший імунітет, який може зберігатися впродовж багатьох років.

До живих вакцин відносять так звані векторні рекомбінантні вакцини. Їх отримують, вбудовувавши в геном (ДНК) вакцинного штаму вірусу або бактерії ген чужорідного антигена. Вже отримані рекомбінантніє штами вірусу віспяної вакцини з вбудованим антигеном HBs вірусу гепатиту В, антигенів вірусу сказу і кліщового енцефаліту.

Інактивовані корпускулярні вакцини. Містять суспензію убитих (нагріванням, обробкою спиртом, або формаліном і ін.) мікробних клітин, убитих із збереженням імуногенних властивостей і найменшим пошкодженням антигенної структури. Це може бути досягнуто щадним нагріванням (56-58 °С), дією формаліну, спирту, ацетону і ін. До убитих вакцин відносять вакцину проти поліомієліту (вакцину Солка), грипу, сказу, черевного тифу, холери, чуми, кашлюку і ін.

Аутовакцини – це вакцини, виготовленні з убитих мікробів, які були виділені від хворого, для лікування якого призначений цей препарат.

Анатоксини - це очищені токсини патогенних мікробів, які знешкоджені формаліном і теплом. Такі токсини втратили свої токсичні властивості, але зберегли імуногенні. Анатоксини призначені для створення активного антитоксичного імунітету і для гіперімунізації тварин-продуцентів антитоксичних сироваток (дифтерія, правець, холера).

Хімічні: отримують методом хімічного синтезу або містять імуногенні фракції (протективні антигени) мікроорганізмів. Отримані з мікробів антигени мають досить високу стабільність і їх легше стандартизувати, чим корпускулярні. В даний час використовують хімічні вакцини проти холери, черевного тифу, кашлюку.

Синтетичні: готують з синтетичних антигенів. Основними компонентами таких вакцин є антиген або його детермінанта в молекулярному вигляді, полімерний високомолекулярний носій для додання макромолекулярності антигена і ад'ювант, що неспецифічно підвищує активність антигена.

ДНК-вакцини: є плазмідні (бактерійні) ДНК, в які вбудований ген, кодуєчий найбільш важливий для імуногенності вірусний білок. Отримані і випробовуються ДНК-вакцина проти ротавірусної інфекції, гепатиту С, ВІЛ.

Антиідиотипічні: засновані на використанні ідиотипічних детермінант. В даний час розробляється вакцина проти ВІЛ-інфекції.

Вакцинація проводиться з урахуванням епідеміологічної обстановки і медичних протипоказань. До протипоказань відносять гострі захворюван-

ня, недавно перенесені інфекційні захворювання, хронічні інфекції (туберкульоз, малярія), пороки серця, важкі ураження внутрішніх органів, друга половина вагітності, при годуванні грудьми.

Фагоцитоз - це найдавніша форма неспецифічного захисту, який є процесом активного поглинання і переварення клітинами організму мікробів або інших сторонніх тіл, які потрапили до нього. Фагоцитами називають клітини організму, які здатні до фагоцитозу. Серед фагоцитів розрізняють професійні і факультативні фагоцити.

До професійних фагоцитів належать нейтрофіли, моноцити крові і макрофаги тканин. Поліморфноядерні нейтрофіли (мікрофаги) забезпечують основний захист організму від патогенних бактерій. Макрофаги (моноцити крові, тканинні макрофаги) є основними клітинами в боротьбі з бактеріями, вірусами. Макрофаги в імунних реакціях виступають як клітини, які презентують антиген, є продуцентами цитокинів, що грають важливу роль в розвитку і регуляції імунних реакцій.

Розпізнавання професійними фагоцитами чужорідних агентів відбувається за допомогою рецептора (неімуноглобулінової природи) з лектіноподібними властивостями через антитіла, С3 - комплемент, або через антитіла і С3, які можуть бути фіксовані на чужорідній речовині або на фагоциті.

До факультативних фагоцитів належать фібробласти сполучної тканини, ендотеліоцити синусів селезінки і печінки, ретикулярні клітини кісткового мозку, селезінки, лімфатичних вузлів, еозинофіли крові. Ці клітини мають слабку фагоцитарну активність і на своїй поверхні не несуть рецепторів до антитіл і С3 - комплементу.

В процесі фагоцитозу розрізняють три стадії:

1 стадія - адгезії частин або молекул на фагоциті;

2 стадія - поглинання, коли тверді і розчинні частинки поглинаються клітиною утворюючи фагосому, яка у свою чергу зливається з лізосомами клітини, утворюючи фаголізому.

3 стадія - стадія переварення.

Для руйнування поглинутих мікробів і вірусів фагоцитуючі клітини використовують киснезалежні і незалежні механізми. У разі дії киснезалежного механізму знищення поглинутих об'єктів відбувається в результаті впливу на них надпероксидних аніонів (O_2^-), пероксиду водню (H_2O_2), гідроксильних радикалів. При киснезалежному механізмі знищення мікробних клітин відбувається за рахунок протеїназного ефекту. В цьому випадку руйнування бактерій відбувається шляхом розщеплювання мукопептидів їх стінки катіонними білками і лізоцимом.

Фагоцитовані мікроби під впливом бактерицидних систем в більшості випадків гинуть усередині фагоцита. Процес, який супроводжується заги-

беллю бактерій, називається завершеним фагоцитозом. В деяких випадках поглинені мікроорганізми в результаті пониженої бактерицидної активності фагоцитів або високої стійкості мікробів до дії бактерицидних чинників можуть виживати і активно розмножуватися усередині фагоцитів, чим обумовлюють хронічне запалення або хронічний хід інфекції. Це явище отримало назву незавершеного фагоцитозу. Спостерігається воно при туберкульозі, бруцельозі, туляремії, гонорей і інших інфекціях.

Конкретні цілі:

1. Вивчення класифікації вакцин.
2. Принципи отримання різних вакцин.
3. Використання вакцин для профілактики і лікування інфекційних хвороб.
4. Вивчення ролі клітинних імунних чинників організму від інфекційних агентів.
5. Правильно інтерпретувати результати фагоцитозу при проведенні лабораторної діагностики інфекційних захворювань.

Уміти:

1. Правильно визначати стадії фагоцитозу.
2. Інтерпретувати результати фагоцитозу при проведенні лабораторної діагностики інфекційних захворювань.

Теоретичні питання:

1. Поняття про активний штучний набутий імунітет.
2. Вакцинопрофілактика інфекційних хвороб.
3. Види вакцин. Вимоги до вакцин і шляхи їх введення.
4. Вакциноterapia інфекційних захворювань.
5. Поняття про фагоцитоз.
6. Види фагоцитарних клітин.
7. Стадії фагоцитозу. Завершений і незавершений фагоцитоз
8. Зв'язок клітинного і гуморального імунітету.
9. Використання фагоцитозу для лабораторної діагностики.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Вивчають стадії фагоцитозу в мікропрепаратах під імерсійним мікроскопом.
2. Інтерпретують результати завершеного і незавершеного фагоцитозу.
3. Замальовують стадії фагоцитозу в альбом.

Література:

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Віща школа, 1992. – 431 с.
2. Вороб'єв А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиологія. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.

3. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.

2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691 с.

5. Конспект лекцій.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.

2. Методические указания для преподавателей к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – Харьков, 1986. – 125 с.

3. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення колекції вакцин і спостережень стадій фагоцитозу в мікропрепаратах, інтерпретації результатів завершеного і незавершеного фагоцитозу. До складу самостійної роботи входить зарисовка демонстраційних препаратів.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У зв'язку з випадком дифтерії виникла необхідність провести профілактичні щеплення в студентській групі. Який препарат потрібно використовувати для створення штучного активного імунітету?

- | | |
|------------------------------|-----------------------------|
| А. Дифтерійний анатоксин | В. Антидифтерійну сироватку |
| С. Специфічні імуноглобуліни | Д. Вакцину АКДС |
| Е. Вакцину з убитих бактерій | |

2. З наближенням епідемії грипу районний епідеміолог складає заяву на профілактичні препарати. Який з них сприяє формуванню активного специфічного імунітету і є найменш реактогенним?

- | | |
|-----------------------------|----------------------------------|
| А. Субодична вакцина | В. Жива вакцина |
| С. Убита вакцина | Д. Донорський γ -глобулін |
| Е. Лейкоцитарний інтерферон | |

3. Для створення активного імунітету у людини використовуються численні вакцинні препарати. Який препарат представлений живими атенуованими бактеріями?

- | | |
|------------------|-----------------------------|
| А. Вакцина АКДС | В. Вакцина БЦЖ |
| С. Вакцина Солка | Д. Вакцина проти гепатиту В |

Е. Вакцина проти гепатиту А

4. Після проникнення в організм бактерії фагоцитуються макрофагами. Яку роль грають макрофаги в кооперації імунокомпетентних клітин на першому етапі формування імунної відповіді?

- А. Активують НК-клітки
- В. Активують Т-кілери
- С. Забезпечують процесинг і презентацію антигена Т-хелперам
- Д. Продукують імуноглобуліни
- Е. Забезпечують процесинг і презентацію антигена Т-кілерам.

5. Який з перерахованих імунних препаратів призначений для створення антитоксичного імунітету?

- А. Протидифтерійна антитоксична сироватка
- В. Протигрипозний γ -глобулін
- С. Анатоксин дифтерійний
- Д. Протикоровий γ -глобулін
- Е. Сироватка лептоспірозна

6. З матеріалу, взятого від хворого з підозрою на гонорею, був приготований мазок із уретри і забарвлений за Грамом. Усередині лейкоцитів були знайдені грамнегативні диплококи. Як правильно називається це явище?

- А. Поглинання бактерій
- В. Завершений фагоцитоз
- С. Переварення бактерій
- Д. Руйнування бактерій
- Е. Незавершений фагоцитоз

7. Для профілактики якого захворювання використовують живу вакцину БЦЖ:

- А. Дифтерії
- В. Лептоспірозу
- С. Грипу
- Д. Правця
- Е. Туберкульозу

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Сучасні уявлення про механізм імунної відповіді.
2. Визначення поняття “вакцини”.
3. Класифікація вакцин.
4. Принципи і загальна процедура виготовлення вакцин різних типів.
5. Переваги і недоліки вакцин живих і інактивованих.
6. Вимоги до вакцин.
7. Вивчення механізму дії вакцин.
8. Протипоказання до застосування вакцин.
9. Визначення поняття “фагоцитоз”.
10. Властивості і функції фагоцитів.
11. Ознайомлення зі стадіями фагоцитозу в мікрослайдах.
12. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 22

Тема: Генетика мікроорганізмів.

Мета: Ознайомлення з генетичними методами досліджень і їх практичним використанням в мікробіології і біотехнології.

Модуль 1. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів. Інфекція. Імунитет.

Змістовний модуль 6. Генетика мікроорганізмів. Еволюція і класифікація мікроорганізмів.

Тема заняття 22. Генетика мікроорганізмів.

Актуальність теми. Вчення про спадковість і мінливість організмів було засноване Ч. Дарвіном в 1859 р.

Генетика мікроорганізмів складає основу молекулярної біології. Найбільш важливі проблеми молекулярної генетики вивчаються на мікроорганізмах.

Ядерні структури бактерій мають характерні морфологічні ознаки, такі, що відрізняють їх від ядер еукаріотичних клітин: їх утворюють так звані хроматинові тільця або нуклеоїди, позбавлені оболонки і що включають майже всю ДНК бактерій. Ядерні структури можна спостерігати у фазово-контрастному мікроскопі, де вони виглядають як менш щільні ділянки цитоплазми.

Мінливість мікроорганізмів підрозділяють на:

- 1) неспадкову (модифікаційну);
- 2) спадкову, таку, що викликається мутаціями і генетичними рекомбінаціями генів.

Модифікація - це мінливість, яка викликана дією чинників зовнішнього середовища і що не робить впливу на розвиток. Наприклад, дефіцит кальцію в середовищі викликає підвищене спороутворення і слизистий ріст у бактерій сибірської виразки. Зменшення кількості кисню знижує ступінь пігментації і збільшує число гладких колоній у мікобактерій туберкульозу.

Зміни, що з'являються в результаті модифікації, можуть бути стабільними і лабільними. У ряді випадків ознаки, що індукуються чинниками зовнішнього середовища, можуть зберігатися протягом декількох поколінь.

Під впливом несприятливих умов існування окремі види бактерій зазнають глибокі зміни з формуванням своєрідних дрібних колоній (L-колоній) з темним щільним центром і більш пухкою периферією. L-форми бактерій виникають в результаті порушення синтезу клітинної стінки,

наприклад при дії на культуру пеніциліну, імунної сироватки, фага, хімічних речовин і ін. несприятливих чинників. L-форми колоній можуть бути стабільними. У ряді випадків вони реверсують у вихідні; такі переходи спостерігаються у мікобактерій туберкульозу, стафілококів, холерних вібріонів і ін.

Спадкова мінливість. У клітинах бактерій міститься два типи нуклеїнових кислот - ДНК і РНК, у вірусів тільки один тип - або ДНК, або РНК. Основну генетичну функцію у бактерій виконує ДНК. У бактерій також є цитоплазматичні спадкові детермінанти у вигляді невеликих молекул ДНК (позахромосомні молекули ДНК), які називаються плазмідами. Плазміди несуть від 40 до 50 генів і виконують регуляторні і кодуєчі функції. Перші направлені на компенсацію метаболічних дефектів, другі наділяють бактерії певними властивостями (токсигенністю - тох-плазміда, резистентністю до антибактеріальних препаратів - R-плазміда і ін.).

Спадкова мінливість у бактерій здійснюється в результаті зміни генетичних структур.

Одиницею спадковості є ген, який є ділянкою ДНК, в якій зашифрована послідовність амінокислот в поліпептидному ланцюзі. Гени бувають структурні, регуляторні і гени-оператори. Структурний ген обумовлює синтез певного білка. Регуляторні гени визначають синтез білкової молекули, яка регулює діяльність структурних генів. Гени-оператори служать посередниками між регуляторними і структурними генами. Ділянка хромосоми, яка об'єднує ген-оператор і структурні гени називається опероном.

Мігруючі генетичні елементи - окремі ділянки ДНК, здатні визначати своє власне перенесення від однієї хромосоми до іншої, або між хромосомою і плазмідною. Простим видом мігруючих елементів є інсерційні послідовності (IS - елементи). Містять тільки гени, необхідні для їх власного переміщення. Транспозони - (Tn - елементи) містять фрагмент ДНК, що несе специфічні гени і два IS-елементи.

Спадкова мінливість у бактерій виявляється у вигляді мутацій і рекомбінацій.

Мутації - зміни в первинній структурі ДНК, що виявляються спадково закріпленою втратою або зміною якої-небудь ознаки або групи ознак (стійкі спадкові зміни властивостей мікроорганізму, не пов'язані з рекомбінаційним процесом). У їх основі лежать помилки копіювання спадкової інформації, що виникають при реплікації. Мутації підрозділяють на спонтанні (виникають випадково під впливом зовнішніх чинників) і індуковані (з'являються унаслідок обробки мікробної популяції мутагенними агентами, такими як радіація, температура, хімічні чинники і ін.). Частота спонтанних мутацій у бактерій знаходиться в межах 1×10^{-12} - 1×10^{-5} .

Генетичні рекомбінації - до цієї групи мінливості відносяться рекомбінації генів, які виникають унаслідок трансформації, трансдукції і кон'югації. Генетичні рекомбінації бактерій і вірусів обумовлюють виникнення рекомбінантів, у яких є ознаки обох батьків: основний набір генів реципієнта і певна частина генів донора.

Трансформація - це передача генетичного матеріалу від донора реципієнтові за допомогою ізольованої ДНК. Успіх трансформації залежить від двох складових - компетентності реципієнта і якісних властивостей трансформуючої ДНК.

«Компетентність» - особливий стан реципієнта, при якому він здатний сприймати донорську ДНК, - залежить від присутності в мембрані спеціальних білків, що мають спорідненість з ДНК.

До якісних характеристик трансформуючої ДНК відносять: гомологічність, наявність подвійної спіралі ДНК, значна молекулярна маса (більш 107 Д).

Трансдукція - це передача генетичного матеріалу від донора до реципієнта за допомогою помірних фагов. Так, наприклад, за допомогою фага можна відтворити трансдукцію джгутиків, ферментативні властивості, стійкість до антибіотиків, токсигенність і ін. Механізм трансдукції: в процесі репродукції деяких помірних фагів невеликі фрагменти ДНК бактерій-донорів вбудовуються в геном фага, який переносить їх в бактерії-реципієнти.

Розрізняють 3 типи трансдукції: генералізовану (загальну), специфічну і абортивну. При загальній трансдукції відбувається перенесення будь-якого маркера або декількох маркерів. При специфічній трансдукції передається тісно зчеплена група генів, наприклад, контролююча утилізацію галактози, і не передаються гени, що детермінують утилізацію інших вуглеводів, здатність синтезувати амінокислоти, чутливість до антибіотиків і ін. Для абортивної трансдукції характерною особливістю є те, що внесений фагом фрагмент нуклеотида не включається в нуклеотид реципієнта; він локалізується в цитоплазмі і при діленні передається тільки одній дочірній клітині, друга клітина містить генетичний апарат реципієнта.

Кон'югація - це передача генетичного матеріалу від однієї клітини іншій шляхом безпосереднього контакту (нагадує редукований статевий процес). При кон'югації відбувається односторонній процес перенесення генетичного матеріалу від донора реципієнтові. Необхідною умовою для кон'югації повинна бути наявність у донора специфічного чинника плодючості (чинника фертильності), що позначається F. У грамнегативних бактерій виявлені статеві волоски (F-пілі), контрольовані F-чинником. Через F-пілі при кон'югації відбувається перенесення генетичного матері-

алу. При кон'югації відбувається перенесення не всього нуклеоїда, а лише певних його частин.

Конкретні цілі:

1. Визначити, чим представлений генетичний апарат бактерій.
2. Визначити поняття “мінливість”.
3. Визначити чинники мінливості.
4. Вивчити види мінливості.
5. Визначити значення трансформації, трансдукції і кон'югації.

Уміти:

1. Правильно визначати види мінливості.
2. Відрізнати поняття “донор”, “реципієнт”.
3. Відрізнати поняття “Вірулентний і помірний фаги”.

Теоретичні питання:

1. Чим представлений генетичний апарат мікробної клітини.
2. Форми мінливості бактерій.
3. Поняття рекомбінація, трансформація, трансдукція і кон'югація.
4. Матеріальні основи спадковості у бактерій. Хромосомні і позахромосомні чинники. Плазміди, класифікація.
5. Мутації, спонтанні і індуковані. Генез мутацій.
6. Значення генетики бактерій в теорії і практиці, в біології і медицині.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Постановка дослідів трансформації, трансдукції і кон'югації.
2. Запис в альбом результатів проведених дослідів трансформації, трансдукції і кон'югації.

Література:

1. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.
2. Медицинская микробиология /Под редакцией В.И. Покровского.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.– 768 с.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /Под редакцией академика А.А. Воробьева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 691 с.

Додаткова література:

1. Збірник завдань для підготовки до тестового екзамену Крок-1. Загальна лікарська підготовка. – Київ: Медицина, 2004. – С. 300-333.
2. Сборник тестовых заданий для самоподготовки по медицинской микробиологии и вирусологии. – Харків, 2005. – 28 с.

Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з постановки дослідів транс-

Навчальне видання

**МОДУЛЬ 1.
МОРФОЛОГІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.
ІНФЕКЦІЯ. ІМУНІТЕТ**

*Методичні вказівки для студентів
II та III курсів медичних факультетів*

Упорядники Циганенко Анатолій Якович
Мінухін Валерій Володимирович
Павленко Неоніла Володимирівна
Габишева Людмила Степанівна
Ткаченко Вікторія Леонідівна
Коваленко Наталя Іллівна
Мішина Марина Мітрофанівна
Днестранська Людмила Іванівна
Мозгова Юлія Анатолівна
Конь Катерина Володимирівна
Краснікова Лариса Володимирівна

Відповідальний за випуск Конь К.В.

Редактор
Комп'ютерна верстка

Підп. до друку. . Формат А5. Папір друк. Ризографія.
Ум. друк. л. 7,75 . Тираж 100 прим. Зак. №.....

Пр. Леніна, 4, м. Харків, ХНМУ, 61022
Редакційно-видавничий відділ

Свідоцтво про занесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавників, виготовників та поширювачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від. 18.07.2008 р.