

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
Харківський національний медичний університет

**МОДУЛЬ 2**

**СПЕЦІАЛЬНА, КЛІНІЧНА  
І ЕКОЛОГІЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ**

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

Рекомендовано  
вченою радою ХНМУ  
Протокол № 11 від 15.10.09.

Харків ХНМУ 2009

Модуль 2. Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія: 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 – 124 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 ЗА- НЯТТЯ № 23

**Тема: Грампозитивні коки (стафілококи і стрептококи).**

**Мета: Вивчення основних елементів мікробіологічних досліджень при діагностиці захворювань, викликаних грампозитивними коками.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокариоти і еукариоти.

**Тема 1.** Стафілококи і стрептококи (сімейства *Micrococcaceae* та *Streptococcaceae*).

**Актуальність теми.** Стафілококи. Сімейство *Micrococcaceae*, рід *Staphylococcus*. Всі види стафілококів є округлі клітини діаметром 0,5-1 мкм. У мазках розташовуються зазвичай несиметричними скупченнями («грони винограду»), але зустрічаються одиночні клітини, пари клітин. Грампозитивні. Спору не утворюють, джгутиків не мають. У деяких штамів можна виявити капсулу. Можуть утворювати L-форми. Клітинна стінка містить велику кількість пептидоглікана, пов'язаних з ним тейхоевих кислот, протеїн А.

Стафілококи добре ростуть на простих середовищах (рН 7,0-7,5); факультативні анаероби. На щільних середовищах утворюють гладкі круглі опуклі колонії з різним пігментом. Пігмент не має таксономічного значення. Продукують сахаролітичні і протеолітичні ферменти. Стафілококи виробляють гемолізину, фібрinolізін, фосфатазу, бета-лактамазу і ін.

Стафілококи дуже пластичні: швидко виробляють стійкість до антибактеріальних препаратів. Істотну роль в цьому грають плазмиди, що передаються за допомогою трансдукуючих фагів від однієї клітини до іншої. R-плазмиди детермінують стійкість до одного або декількох антибіотиків, в т.ч. і за рахунок екстрацелюлярної продукції бета-лактамази - ферменту, що руйнує пеніцилін, розриває його бета-лактамне кільце.

При мікробіологічній діагностиці віднесення культури до роду стафілококів ґрунтується на типовій морфології і забарвленні клітин, їх взаємному розташуванню і анаеробній ферментації глюкози. Для видової ідентифікації використовують в основному 3-4 тести: продукцію плазмокоагулази, лецитовітєлази, анаеробну ферментацію манніта і глюкози. У сумнівних випадках проводять тести на наявність ДНК-ази, бета-токсина.

Збудником стафілококових інфекцій частіше буває *S. aureus*, дещо рідше - *S. epidermidis*, дуже рідко - *S. saprophyticus*. Стафілококи є представниками нормальної мікрофлори людського тіла, тому мікробіологічна діагностика стафілококових інфекцій не може обмежуватися виділенням і

ідентифікацією збудників; необхідні кількісні методи дослідження, тобто визначення кількості мікроорганізмів в пробі.

Лікування стафілококових інфекцій зазвичай проводять антибіотиками і сульфаніламідними препаратами.

Стрептококи. Сімейство Streptococcaceae, рід Streptococcus. У рід Streptococcus входять більше 20 видів, серед яких є представники нормальної мікрофлори людського тіла і збудники важких інфекційних епідемічних захворювань людини.

Стрептококи - дрібні (менше 1 мкм) кулясті клітини, розташовані ланцюжками або попарно, грампозитивні, спору не утворюють, нерухомі. Більшість штамів стрептококів утворюють капсулу, що складається з гіалуронової кислоти. Клітинна стінка містить білки, вуглеводи і пептидоглікани. Легко переходять в L-форми.

Ростуть на середовищах, збагачених вуглеводами, кров'ю, сироваткою, асцитичною рідиною. На щільних середовищах зазвичай формують дрібні сірі колонії. На рідких середовищах для стрептококів характерний придонний ріст. Стрептококи - факультативні анаероби. На кров'яному агарі викликають альфа-гемоліз (що зеленить) і бета-гемоліз (повний). Гинуть при пастеризації при 56 °С протягом 30 хв.

На основі полісахаридного антигена стрептококи діляться на серогрупи. Стрептококи групи А виробляють більше 20 позаклітинних речовин, що володіють антигенною активністю. Найбільше значення в патогенезі стрептококових інфекцій мають: стрептокіназа (фібрінолізин), ДНК-аза, гіалуронідаза, еритрогенин.

Стандартний розведений еритрогенин використовують при постановці внутрішньошкірної проби (проба Дика) для виявлення чутливості до цього токсину (сприйнятливість до скарлатини).

Пневмококи - Streptococcus pneumoniae - грампозитивні диплококи, зазвичай ланцетоподібні або розташовані у вигляді ланцюжків, мають полісахаридну капсулу, яка дозволяє легко «типувати» їх специфічними антисироватками. Пневмококи нерухомі, спору не утворюють; факультативні анаероби. При культивуванні на штучних живильних середовищах втрачають капсулу, переходять з S- в R-форму. Добре ростуть на кров'яних і сироваткових середовищах.

### **Конкретні цілі:**

1. Тракувати методики приготування бактеріологічного препарату і фарбування його за Грамом, трактувати результати мікроскопічного дослідження мікроорганізмів;

3. Робити висновки по мікроскопії демонстраційних бактеріологічних препаратів;

4. Робити посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища;

5. Трактувати результати бактеріологічного дослідження мікроорганізмів.

**Уміти:**

1. Охарактеризувати колонії, утворені стафілококом або стрептококом на МПА в чашці Петрі;
2. Приготувати мазок, офарбувати за Грамом, промікроскопіювати, замалювати;
3. Ідентифікувати виділену культуру за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями, пігментоутворенням.

**Теоретичні питання:**

1. Морфологічні, культуральні, біохімічні властивості стафілококів і стрептококів.
2. Принципи класифікації стафілококів (епідермальні, золотисті) і стрептококів.
3. Захворювання, викликані цими мікроорганізмами.
4. Розповсюдження грампозитивних коків в природі. Потенційно патогенні, носійство стафілококів, шляхи зараження, патогенез.
5. Схема мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань, викликаних грампозитивними коками.

**Практичні завдання, що проводяться на занятті:**

1. Приготування мікропрепаратів з чистих культур стафілококів, стрептококів.
2. Забарвлення мікропрепаратів за Грамом.
3. Мікроскопія мікропрепаратів з чистих культур бактерій, їх аналіз і замальовування в протокол.
4. Мікроскопія демонстраційних препаратів, замальовування їх в протокол.
5. Розбір і запис схем лабораторної діагностики інфекційних захворювань, викликаних грампозитивними коками.
6. Оформлення протоколу.

**Література:**

1. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – Київ: Вища 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.

**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 до роботи на практичному занятті:**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з дослідження матеріалу, отриманого від хворого:

1. Приготування мазків, забарвлення їх за Грамом, мікроскопія.
2. Мікроскопічна характеристика колоній, які виростили на МПА в чашці Петрі.
3. Вивчення характеру зміни середовища (цукровий бульйон) при рості в ньому мікроорганізмів - збудників сепсису (стафілококів) після посіву крові хворого.
4. Вивчення біохімічних властивостей стафілокока по строкатому ряду.
5. Розбір і запис схем лабораторної діагностики інфекційних захворювань, викликаних грампозитивними коками.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. У чоловіка 54 років, страждаючого на хронічний тонзилит, в мазках із зіву виявлені кулясті бактерії, утворюючі гроноподібні скупчення. Як називаються бактерії з таким розташуванням?

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

2. Після перенесеної інфекції верхніх дихальних шляхів дитина тривалий час скаржиться на болі в суглобах, що посилюються в осінній період. Який мікроорганізм став причиною перенесеного захворювання?

- A. *S. aureus*                              В. *S. pyogenes*                      С. *S. pneumoniae*  
D. *N. meningitidis*                      Е. *N. gonorrhoeae*

3. У хірургічному відділенні виник спалах шпитальної інфекції, викликаной *S. aureus*. Як розташовується *S. aureus* в мікропрепаратах?

- A. Групами по 4 клітини                      В. У вигляді ланцюжка  
C. Парами                                      D. У вигляді пакетів                      Е. Гроноподібно

4. У лікарню поступила дитина з діагнозом: стафілококовий сепсис. На яке живильне середовище необхідно посіяти кров хворого, щоб виділити збудник?

- A. Середовище Плоскирева                      В. М'ясо-пептонний бульйон

- С. Цукрово-печінковий бульйон      D. Середовище Бучина  
E. Жовтково-сольовий агар

5. У посіві гною з фурункула виявлені кулястої форми мікроби, розташовані у вигляді грони винограду. Які морфологічні форми мікробів виявлені?

- A. Диплококи      B. Мікрококи      C. Стрептококи  
D. Стафілококи      E. Тетракоки

6. Хворого госпіталізували в хірургічну клініку з підозрою на сепсис. Який матеріал для дослідження необхідно узяти?

- A. Ліквор      B. Кров      C. Сечу  
D. Гній      E. Пунктат лімфатичного вузла

7. У хірургічному стаціонарі почастишали випадки гнійних післяопераційних ускладнень стафілокової природи. Яким чином можна виявити джерело стафілокової інфекції в стаціонарі?

- A. Визначення антибіотикочувливості  
B. Визначення гемотоксинів  
C. Визначення ферментів агресії  
D. Визначення біоварів  
E. Визначення фаговарів

8. В період спалаху шпитальної інфекції із слизової оболонки носоглотки медсестри був виділений стафілокок, що відрізняється від штаму, виділеного від хворого, наявністю R-плазмиди. Яку ознаку може придбати шпитальний штам в наслідку кон'югації із стафілококами, виділеними від медсестри?

- A. Стійкість до антибіотиків  
B. Виділення ентеротоксину  
C. Фертильність  
D. Синтез стафілоцинів  
E. Утворення шорстких колоній

#### **Алгоритм лабораторної роботи**

1. Приготування мазків з чистої культури грампозитивних коків, з суміші мікробів, забарвлення їх за Грамом;
2. Мікроскопія препаратів, забарвлених за Грамом;
3. Оцінка результатів бактеріоскопічного методу дослідження;
4. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів;
5. Замальовування демонстраційних препаратів;
6. Розбір і запис схем лабораторної діагностики захворювань, викликаних грампозитивними коками.
7. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 24

**Тема: Грамнегативні коки (менінгококи і гонококи).**

**Мета: Освоєння методів мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних менінгококами і гонококами.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 2.** Менінгококи і гонококи (сімейство Neisseriaceae).

**Актуальність теми.** Відділ Gracilicutes, сімейство Neisseriaceae, рід нейсерій (*Neisseria*). Всі види сімейства є мешканцями слизистих оболонок теплокровних. Загальні ознаки бактерій цієї групи: здатні рости у присутності кисню, представлені нерухомими диплококами і короткими паличками, що негативно забарвлюються за Грамом, спори не утворюють.

Нейсерії - грамнегативні аеробні коки, що включають 8 видів, найбільш патогенні для людини види нейсерій - *Neisseria meningitidis* (менінгококи) і *Neisseria gonorrhoeae* (гонококи). 7 видів зустрічається у людини, з них 55 видів є представниками нормофлори носоглотки і верхніх дихальних шляхів.

Культуральні властивості. Аероби, хемоорганотрофи, патогенні види вибагливі до умов культивування, не ростуть на звичайних живильних середовищах. Види, що мешкають в носоглотці, утворюють жовтий пігмент на щільних середовищах з додаванням курячого жовтка. Ферментативна активність низька, особливо у патогенних видів.

Фактори патогенності: капсула, пілі, ендотоксин, поверхневі білки зовнішньої мембрани.

Стійкість у навколишньому середовищі низька, чутливі до дії звичайно живаних антисептиків і дезінфектантів.

Менінгокок. *Neisseria meningitidis*.

Менінгококова інфекція - інфекційна хвороба, що викликається *Neisseria meningitidis*, прояви якої варіюють від безсимптомного носійства до важких менінгеальних форм. Збудник вперше детально вивчений в 1887 р. А. Ваксельбаумом.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Менінгококи - дрібні диплококи. Характерне розташування їх у вигляді пари кавових зерен, обернених увігнутими поверхнями одне до одного. Менінгококи нерухомі, спори не утворюють, грамнегативні, капсула непостійна, мають пілі.

Культивування. Аероби, культивують на середовищах, що містять нормальну сироватку або дефібриновану кров барана або коня, а також на

селективному середовищі з ристоміцином. Підвищена концентрація CO<sub>2</sub> стимулює зростання менінгококів.

Резистентність. Менінгококи малостійкі в навколишньому середовищі, чутливі до висушування і охолодження. Чутливі до пеніцилінів, тетрацикліну, еритроміцину, стійкі до ристоміцину і сульфаніламідів.

Патогенез і клінічна картина. Людина - єдиний природний господар менінгококів. Носоглотка є вхідними воротами інфекції. Тут бактерії можуть тривало існувати, не викликаючи запалення (носіїство), але іноді стають причиною назофарингіту. З носоглотки вони можуть потрапляти в кров'яне русло (менінгококцемія) з розвитком лихоманки і геморагічним висипом. Найбільш частим ускладненням менінгококцемії є менінгіт або менінгоенцефаліт (запалення мозкових оболонок).

Імунітет. Постінфекційний імунітет при генералізованих формах хвороби стійкий, напружений.

Мікробіологічна діагностика. Для лабораторної діагностики досліджують кров, спинномозкову рідину, слиз з носоглоткових тампонів. При мікроскопічному дослідженні осаду центрифугованої спинномозкової рідини і мазків із зіву видно типові нейсерії усередині нейтрофілів або позаклітинно. Посів матеріалу проводять відразу після узяття на кров'яний агар (шоколадний агар), агар з ристоміцином (або лінкоміцином), середовище Мартену - агар з антибіотиками (ВКН - ванкоміцин, колістин, ністатин). Інкубацію проводять в атмосфері, що містить 5 % вуглекислого газу.

Лікування та профілактика. Як етіотропну терапію використовують антибіотики: пеніцилін, левоміцетин, рифампіцин. Розроблена менінгокова хімічна полісахаридна вакцина, яка проходить апробацію.

Гонокок. *Neisseria gonorrhoeae*.

Гонорея - інфекційне венеричне захворювання, що викликає *Neisseria gonorrhoeae*, яке характеризується гнійним запаленням слизистих оболонок органів сечостатевої системи.

Збудник гонореї - гонокок, відкритий А. Нейссером в 1879 р., відноситься до сімейства *Neisseriaceae*, відділу *Gracilicutes*; викликає також гостре гнійне запалення слизистої оболонки ока - бленорею.

Гонокок - аероб, вирощується на живильних середовищах, що містять сироватку, кров або асцитичну рідину. Оптимальні умови для культивування – температура 37 °С і підвищена концентрація вуглекислого газу. Гонокок володіє слабкою сахаролітичною активністю.

Патогенез. Найчастіше гонорейна інфекція виявляється запаленням слизистих оболонок, що супроводжується гнійними або слизисто-гнійними виділеннями з сечовипускального каналу (уретри) у чоловіків, з уретри і шийки матки у жінок. Викликана нейсеріями інфекція у жінок протікає більш стерто, але не дивлячись на це, приводить до серйозних

ускладнень. Так, при обстеженні безплідних жінок не так вже рідко виявляється приховано протікаюча гонорейна інфекція.

Джерелом зараження частіше є хворі на хронічні, малосимптомні форми гонореї, які не вважають симптоми, що є у них, свідомством венеричного захворювання.

Мікробіологічна діагностика. Основний метод діагностики - бактеріоскопія препаратів гнійних виділень, забарвлених за Грамом і метиленовим синім. За відсутності результатів бактеріоскопії використовують бактеріологічний метод.

Характерні ознаки гонореї при бактеріоскопії ("у мазках"): внутрішньоклітинно розташовані, грамнегативні диплококи, причому кожен з коків має бобовидну форму.

Бактеріоскопія вельми ефективна при гострій гонореї, при якісній підготовці хворого до дослідження, правильному узятті матеріалу. У разі негативного результату показано повторне дослідження протягом 3 подальших днів з використанням провокації. З кожного вогнища для бактеріоскопії беруть мазки на два скла: один для орієнтовного дослідження після забарвлення метиленовим синім, інший - для забарвлення за Грамом, що дозволяє диференціювати грампозитивні і грамнегативні мікроорганізми.

Культуральний метод ("посів") застосовується при неодноразовому отриманні негативного результату при бактеріоскопічному дослідженні при підозрі на гонорею, наявності в мазках підозрілих на гонокок мікроорганізмів, встановленні вилікування від гонореї ("контроль вилікування"), підтвердженні гонорейного процесу у дітей і обстеженні хворих на трихомоніаз після лікування.

Останнім часом зростає значення молекулярно-біологічних методів для діагностики гонореї. Особливо цінний метод ПЛР для виявлення хронічної, стертої, уповільненої, лікованої гонореї, коли міняються властивості гонокока і, викликаючи патологічні процеси в організмі, він проте "відмовляється" рости на живильних середовищах, і тим самим, "видавати" себе. Останнім часом ПЛР-діагностика стала використовуватися для ідентифікації штамів мікроорганізмів з генетичною стійкістю до антибіотиків (тетрацикліну, еритроміцину), що представляє серйозну епідеміологічну проблему. Офіційно дозволено застосування методу ПЛР у виявленні гонококів, хламідій, мікоплазм, уреоплазм і т.д.

Лікування. Поєднують призначення антибактеріальних препаратів (бажано, з урахуванням чутливості гонококів до них, що визначається за результатами "посіву") і засобів, стимулюючих імунітет. Лікування вагітних проводять у стаціонарі з урахуванням впливу антибіотиків на плід. При хронічній гонореї вводять убиту гонококову вакцину з метою імунотерапії.

Профілактика. Специфічна профілактика відсутня.

**Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією виду *Neisseria meningitidis*.
2. Вивчити методи мікробіологічної діагностики менінгококових захворювань і бактеріоносійства.
3. Ознайомитися з біологічними властивостями виду *Neisseria gonorrhoeae* і їх патогенністю для людини.
4. Описувати патогенез гострої і хронічної гонореї.
5. Вивчити методи мікробіологічної діагностики гонореї.
6. Ознайомитися з методами профілактики і спеціальної терапії гонореї і бленореї.
7. Тракувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.

**Уміти:**

1. Проводити диференціацію менінгококів і грамнегативних диплококів носоглотки.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих із захворюваннями, викликаними менінгококами і гонококами.
3. Виділяти чисті культури нейсерій.
4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.
5. Тракувати результати серологічного дослідження сироватки хворих на гонорею (РЗК).

**Теоретичні питання:**

1. Рід нейсерій (*Neisseria*). Біологічні властивості. Класифікація.
2. Менінгококи (*Neisseria meningitidis*). Властивості, класифікація. Патогенез і мікробіологічна діагностика менінгококових захворювань. Диференціація менінгококів і грамнегативних диплококів носоглотки.
3. Гонококи (*Neisseria gonorrhoeae*). Властивості. Патогенність для людини. Гостра і хронічна гонорея. Імунітет. Мікробіологічна діагностика гонореї. Профілактика і спеціальна терапія гонореї і бленореї.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів з чистих культур нейсерій, їх аналіз і замальовування в протокол.
2. Мікроскопія демонстраційних мікропрепаратів: мазок з уретри хворого на гонорею (забарвлення метиленовим синім), мазок з уретри хворого на гонорею (забарвлення за Грамом), менінгокок в спинномозковій рідині (забарвлення за Грамом).
3. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
4. Оформлення протоколу.

### **Література:**

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

### **Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики менінгококової інфекції. Студенти вивчають схему виділення чистої культури менінгокока і мікроскопують готові зафіксовані мазки з чистої культури менінгокока.

Далі студенти вивчають схему виділення чистої культури гонокока, знайомляться з правилами забору матеріалу від хворих на гонорею для проведення прямої мікроскопії досліджуваного матеріалу і мікроскопують готові зафіксовані мазки гною з уретри хворих.

Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх замальовування.

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

### **Цільові навчальні завдання:**

1. При бактеріоскопічному дослідженні слизу з задньої стінки носоглотки виділені грамнегативні коки, що нагадують кавові зерна і розташовані парами або тетрадами. Назвіть збудник, який був ізольований бактеріологом?

- |                                       |                                 |
|---------------------------------------|---------------------------------|
| A. <i>Acinetobacter calcoaceticum</i> | B. <i>Staphylococcus aureus</i> |
| C. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>       | D. <i>Moraxella lacunata</i>    |
| E. <i>Neisseria meningitidis</i>      |                                 |

2. При дослідженні гнійних виділень з шийки матки в них виявлені грамнегативні диплококи, розташовані як в лейкоцитах, так і поза ними. Назвіть збудника гнійного запалення шийки матки в цьому випадку.

- |                                 |                                 |
|---------------------------------|---------------------------------|
| A. <i>Chlamydia trachomatis</i> | B. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> |
| C. <i>Trichomonas vaginalis</i> | D. <i>Haemophilus vaginalis</i> |
| E. <i>Toxoplasma gondii</i>     |                                 |

3. З гною, взятого з уретри хворого з підозрою на гостру гонорею, приготований мазок і забарвлений за Грамом. При мікроскопії його виявлена велика кількість коків. Які тинкторіальні властивості побачених мікроорганізмів і характер їх розташування в препараті свідчитимуть на користь діагнозу гонореї?

А. Грампозитивні коки, розташовані усередині і поза лейкоцитами

В. Грамнегативні диплококи, розташовані усередині і поза лейкоцитами

С. Грампозитивні тетракоки, розташовані поза лейкоцитами

Д. Грамнегативні тетракоки

Е. Грампозитивні коки, розташовані у вигляді ланцюжків

4. На спеціальному живильному середовищі після посіву гнійного виділення з уретри з'явилися ніжні блакитні колонії. При мікроскопії препаратів у них виявлені грамнегативні бобовидні диплококи. Збудником якої хвороби вони є?

А. Уреаплазмоза

В. Сифіліса

С. Хламідіоза

Д. Гарднерельоза

Е. Гонореї

5. При посіві осаду спинномозкової рідини, отриманої у дитини з діагнозом «епідемічний цереброспінальний менінгіт» на спеціальному середовищі виростили ніжні колонії з голубуватим відтінком. Мікроорганізми, які їх утворили, були ідентифіковані як нейсерії. Який тест необхідно використовувати для визначення патогенності виділених у цього хворого нейсерій?

А. Реакцію гемолізу

В. Лецитовітелазну активність

С. Реакцію плазмокоагуляції

Д. Оксидазну реакцію

Е. Реакцію ферментації маніта в анаеробних умовах

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: рішення початкових тестів.

2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики менінгококової інфекції - схеми виділення чистої культури менінгокока.

3. Мікроскопія готових мазків з чистої культури менінгокока.

4. Вивчення схеми виділення чистої культури гонокока.

5. Ознайомлення з правилами забору матеріалу від хворих на гонорею для проведення прямої мікроскопії досліджуваного матеріалу.

6. Мікроскопія готових зафіксованих мазків гною з уретри хворого.

7. Замальовування мікропрепаратів в протокол.

8. Аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

9. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 25

**Тема: Кишкова паличка. Збудники черевного тифу, паратифів А і В.**

**Мета: Освоєння методів мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних кишковою паличкою і сальмонелами.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 3.** Кишкові палички.

**Актуальність теми.** Збудники ешерихіозів. Ешерихіози - захворювання, збудниками яких є *Escherichia coli*. Розрізняють ентеральні (кишкові, епідемічні) ешерихіози - гострі інфекційні хвороби, що характеризуються переважним ураженням травного тракту, збудниками яких є діареєгенні штами *E. coli*, і парентеральні ешерихіози, що протікають з ураженням будь-яких органів і викликаються умовно-патогенними штамми *E. coli*. Кишкова паличка була відкрита Т. Ешерихом (1885).

Значення *E. coli*. Кишкова паличка - нормальний представник мікрофлори товстої кишки; виконує ряд корисних функцій, зокрема антагоніста патогенних кишкових бактерій, гнильних бактерій, грибів роду *Candida*, бере участь в синтезі вітамінів групи В, Е, К<sub>2</sub>, частково розщеплює клітковину. У товстому кишечнику мешкають *E. coli*, що відносяться до серогруп О<sub>2</sub>, О<sub>7</sub>, О<sub>9</sub> і ін.

*E. coli* широко використовується в наукових і практичних цілях, будучи універсальною генетичною моделлю, об'єктом, широко вживаним в генетичній інженерії і біотехнології; її також використовують як санітарно-показовий мікроорганізм для виявлення фекального забруднення об'єктів навколишнього середовища.

Проте *E. coli* може заподіяти і шкоду людині. Умовно-патогенні штами, що мешкають в товстій кишці, при ослабленні імунної системи організму можуть викликати різні гнійно-запальні захворювання за межами травного тракту: цистити, отити, менінгіти і навіть колі-сепсис. Ці захворювання називають парентеральними ешерихіозами.

Існують також і безумовно патогенні штами *E. coli* - діареєгенні, або ентеропатогенні, кишкові палички (ЕПКП), які, потрапляючи в організм ззовні, викликають спалахи захворювань, що іменуються ентеральними (кишковими, епідемічними) ешерихіозами. Представники більш ніж 80 серогруп *E. coli* є ентеропатогенними (наприклад, О<sub>55</sub>; О<sub>111</sub>; О<sub>15</sub>). Від ЕПКП частіше страждають грудні діти, у яких імунна система ще не сформувалася, не виробляються власні імуноглобуліни, що захищають від

грамнегативних бактерій, а кислотність шлункового соку низька. У дітей розвивається колієнтерит. Але ЕПКП можуть вражати і дорослих, причому ешерихіоз може протікати, наприклад, за типом холери або дизентерії. Крім того, *E. coli* може бути причиною харчової токсикоінфекції.

Таксономія. *E. coli* - основний представник роду *Escherichia*, сімейства *Enterobacteriaceae*, що входить у відділ *Gracilicutes*.

Морфологія і тинкторіальні властивості. *E. coli* - дрібні грамнегативні палички довжиною 2-3 мкм, шириною 0,5-0,7 мкм із закругленими кінцями, в мазках розташовуються безладно; не утворюють спору, деякі штами мають мікрокапсулу; перитрихи; окрім джгутиків, іноді виявляються пілі.

Культивування. Кишкова паличка - факультативний анаероб; не вимоглива до живильних середовищ, добре росте на простих живильних середовищах при температурі 37 °С і рН середовища 7,2-7,4, викликаючи дифузне помутніння рідкого середовища і утворюючи звичайні колонії на щільних середовищах. Для діагностики ешерихіозів широко використовують диференціально-діагностичні середовища Ендо, Левіна і ін.

Ферментативна активність. *E. coli* володіє високою ферментативною активністю. Кишкова паличка - представник сімейства *Enterobacteriaceae*, що розщеплює протягом 24 год лактозу.

Антигенна структура. Кишкова паличка володіє соматичним (О), жгутиковим (Н) і поверхневим (К) антигенами. Кожен з антигенів неоднорідний: О-антиген налічує більше 170 варіантів, К-антиген - більше 100, Н-антиген - більше 50. Будову О-антигена визначає приналежність до серогрупи. Штам, що має свій набір антигенів, свою антигенну формулу, називається серологічним варіантом *E. coli*. Наприклад, штам O55:K5:H21 відноситься до серогрупи O55.

Фактори патогенності. *E. coli* утворює ендотоксин, що має ентеротропну, нейротропну, пірогенну дію. ЕПКП продукує екзотоксин, який, адсорбуючись на епітелії тонкої кишки, викликає гіперсекрецію води і хлоридів в просвіт тонкої кишки і порушує зворотне всмоктування натрію, що приводить до посилення перистальтики, проносу і зневоднення. У деяких діареєгенних ешерихій, як і у збудників дизентерії, виявлений інвазивний фактор, сприяючий проникненню бактерій всередину клітин. Патогенність ЕПКП також може виявлятися в нефротоксичній дії, виникненні геморагій. До факторів патогенності відносяться також пілі і білки, що сприяють адгезії, і мікрокапсула, що перешкоджає фагоцитозу.

Умовно-патогенні і діареєгенні кишкові палички відрізняються антигенною структурою і набором факторів патогенності.

Патогенез. Вхідні ворота інфекції - порожнина рота. *E. coli*, потрапляючи в тонку кишку і володіючи тропізмом до клітин її епітелію, адсорбується на них за допомогою пілей і білків зовнішньої мембрани. Бактерії

розмножуються, гинуть, звільняючи ендотоксин, який підсилює перистальтику кишечника, викликає діарею, підвищення температури, ознаки загальної інтоксикації. Крім того, кишкова паличка виділяє екзотоксин, що обумовлює важку діарею, блювоту і значне порушення водно-сольового обміну. ЕПКП, продукуючи інші фактори патогенності, надають відповідну дію на організм, що і визначає клінічну картину хвороби.

Клінічна картина. Інкубаційний період продовжується до 6 днів. Захворювання починається гостро з підвищення температури тіла, проносу, блювоти. Розвивається зневоднення, можуть з'явитися кров у випорожненнях, ознаки ураження нирок. Форми ентеральних ешерихіозів можуть бути різні - від безсимптомної до токсико-септичної. Колієрити є однією з причин ранньої дитячої смертності.

Мікробіологічна діагностика. Основний матеріал для дослідження - випорожнення. Діагностика здійснюється за допомогою бактеріологічного методу, при якому не тільки визначають рід і вид виділеної чистої культури, але і встановлюють приналежність її до серогрупи; внутрішньовидова ідентифікація полягає у визначенні серовара; обов'язкове визначення антибіотикограми.

Лікування. Для лікування захворювань, що викликаються *E. coli*, використовують антибіотики.

Збудники черевного тифу і паратифів. Черевний тиф і паратифи А і В - інфекційні хвороби, що викликаються відповідно *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmuelleri*, що супроводжуються схожими патогенетичними і клінічними проявами, характеризуються ураженням лімфатичної системи кишечника, вираженою інтоксикацією. Назва роду *Salmonella* пов'язана з ім'ям Д. Сальмона.

Таксономія. Збудники черевного тифу і паратифів А і В відносяться до відділу *Gracilicutes*, сімейства *Enterobacteriaceae*, роду *Salmonella*, що включає більше 2000 видів.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Сальмонели - дрібні, довжиною 2-3 мкм, шириною 0,5-0,7 мкм, грамнегативні палички із закругленими кінцями. У мазках розташовуються безладно. Не утворюють спори, мають мікрокапсулу, перитрихи.

Культивування. Сальмонели - факультативні анаероби. Вони невибагливі і ростуть без всяких особливостей на простих живильних середовищах при температурі 37 °С і рН середовища 7,2-7,4. Елективним середовищем є, наприклад, жовчний бульйон. При діагностиці черевного тифу, як і інших кишкових інфекцій, використовують диференціально-діагностичні середовища: Ендо, Левіна, вісмут-сульфітний агар і ін.

Ферментативна активність. Біохімічна активність сальмонел достатньо висока, але вони володіють меншим набором ферментів, чим *E. coli*, зок-

рема не зброджують лактозу. *S. typhi* менш активна, чим збудники паратифів: вона ферментує ряд вуглеводів без утворення газу.

Антигенні властивості. Сальмонели мають O- і H-антигени, що складаються з ряду фракцій, або рецепторів. Кожен вид має певний набір фракцій. Ф. Кауфман і П. Уайт запропонували схему класифікації сальмонел за антигенною структурою, в основу якої покладена будова O-антигена. Всі види сальмонел, що мають загальний, так званий груповий рецептор O-антигена об'єднані в одну групу. Таких груп налічується в даний час 65. У схемі також вказана будова H-антигена. Деякі види сальмонел, зокрема *S. typhi*, мають поверхневий Vi-антиген - антиген вірулентності, з яким пов'язана стійкість бактерій до фагоцитозу.

Фактори патогенності. Сальмонели утворюють ендотоксин, що має ентеротропну, нейротропну і пірогенну дію. Білки зовнішньої мембрани обумовлюють адгезивні властивості, стійкість до фагоцитозу, пов'язані з мікрокапсулою.

Резистентність. Сальмонели досить стійкі до низької температури - в холодній чистій воді можуть зберігатися до півтора років; дуже чутливі до дезінфікуючих засобів, високої температури, УФ-променів. У харчових продуктах (м'ясі, молоці і ін.) сальмонели можуть не тільки довго зберігатися, але і розмножуватися.

Патогенез. Збудники потрапляють в організм через рот, досягають тонкої кишки, в лімфатичних утвореннях якої розмножуються, а потім потрапляють в кров. Потоком крові вони розносяться по всьому організму, потрапляючи в паренхіматозні органи (селезінку, печінку, нирки, кістковий мозок). При загибелі бактерій звільняється ендотоксин, що викликає інтоксикацію. З жовчного міхура, де сальмонели можуть тривало, навіть протягом всього життя зберігатися, вони знов потрапляють в ті ж лімфатичні утворення тонкої кишки. В результаті повторного надходження сальмонел може розвинути своєрідна алергічна реакція, що виявляється у вигляді запалення, а потім некрозу лімфатичних утворень. Виводяться сальмонели з організму з сечею і випорожненнями.

Клінічна картина. Клінічно черевний тиф і паратифи не відмінні. Інкубаційний період продовжується 12-14 днів. Захворювання зазвичай починається гостро з підвищення температури тіла, прояву слабкості, стомлюваності, порушуються сон, апетит. Для черевного тифу характерні затьмарення свідомості (від греч. *typhus* - дим, туман), марення, галюцинації, наявність висипу. Дуже важкими ускладненнями захворювання є перитоніт, кишкова кровотеча в результаті некрозу лімфатичних утворень тонкої кишки.

Мікробіологічна діагностика. Як матеріал для дослідження використовують кров, сечу, випорожнення. Основним методом діагностики є бакте-

ріологічний, що завершується внутрішньовидовою ідентифікацією виділеної чистої культури збудника - визначенням фаговара. Застосовують також серологічний метод - реакцію аглютинації Відала, РНГА.

Лікування. Призначають антибіотики. Застосовують також імуноантибіотикотерапію.

Профілактика. Для профілактики проводять санітарно-гігієнічні заходи, а також використовують вакцинацію в районах з несприятливою епідемічною ситуацією. Застосовують черевнотифозну хімічну і черевнотифозну спиртову вакцини, остання збагачена Vi-антигеном. Для екстреної профілактики в осередках інфекції використовують черевнотифозний бактеріофаг (у вигляді пігулок з кислотостійкою оболонкою і в рідкому вигляді).

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією представників сімейства ентеробактерій (Enterobacteriaceae).

2. Вивчити методи мікробіологічної діагностики ешерихіозів.

3. Ознайомитися з біологічними властивостями роду *Salmonella*.

4. Знати класифікацію сальмонел за біохімічними характеристиками і антигенною структурою (Кауфмана-Уайта).

5. Описувати патогенез черевного тифу.

6. Вивчити методи мікробіологічної діагностики черевного тифу.

7. Тракувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.

#### **Уміти:**

1. Проводити диференціацію представників сімейства ентеробактерій.

2. Забирати матеріал для дослідження від хворих із захворюваннями, викликаними представниками сімейства ентеробактерій.

3. Виділяти чисті культури бактерій сімейства ентеробактерій.

4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження матеріалу хворих на черевний тиф.

#### **Теоретичні питання:**

1. Класифікація і загальна характеристика представників сімейства ентеробактерій (Enterobacteriaceae).

2. Сучасні взляди на еволюцію кишкових бактерій.

3. Фізіологічна роль і санітарно-показове значення. Діареєгенні ешерихіози. Класифікація за антигенною структурою і розділення на категорії залежно від факторів вірулентності, серологічних маркерів, клініко-епідеміологічних особливостей. Парентеральні ешерихіози. Мікробіологічна діагностика ешерихіозів.

4. Рід сальмонел (*Salmonella*). Загальна характеристика роду.

5. Класифікація за біохімічними характеристиками і антигенною структурою (Кауфмана-Уайта).

6. Сальмонели-збудники генералізованих інфекцій (черевний тиф і паратиф).

**Практичні завдання, що виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів з чистих культур ентеробактерій, їх аналіз і зарисовка в протокол.

2. Вивчення посівів фекалій хворого на черевний тиф: відбір безбарвних колоній, приготування мазків, забарвлення за Грамом, мікроскопія.

3. Пересівання ізольованих колоній на середовище Реселя.

4. Посів крові хворого на черевний тиф на жовчний бульйон.

5. 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. – 691 с.

**Додаткова література:**

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

**Короткі методичні вказівки для роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики кишкових інфекцій. Студенти знайомляться з правилами забору матеріалу від хворих, мікроскопують готові зафіксовані мазки з чистої культури цих бактерій. Далі студенти вивчають схему виділення чистої культури *Salmonella typhi*, відбирають безбарвні ізольовані колонії, мікроскопують їх після забарвлення за Грамом і пересівають на середовище Реселя. Студенти проводять посів крові на жовчний бульйон.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. З крові хворого виділена культура збудника черевного тифу. Які культуральні властивості характерні для цього збудника?

А. Утворення колоній червоного кольору з металевим блиском на середовищі Ендо

В. Утворення безбарвних колоній на вісмут-сульфіт агарі

С. Утворення гемолізу на кров'яному агарі

Д. Утворення безбарвних колоній на середовищі Ендо і Плоскирева

Е. Утворення ніжної плівки на лужній пептонній воді

2. До лікаря-інфекціоніста на прийом прийшов хворий зі скаргами на лихоманку, яка триває три дні, загальну слабкість, безсоння, погіршення апетиту. При огляді відмічається блідість шкірних покривів, обкладений білим нальотом язик. Лікар запідозрив черевний тиф. Який метод лабораторної діагностики слід провести для підтвердження діагнозу?

- А. Виділення гемокультури В. Виділення копрокультури  
С. Виділення урінокультури D. Виділення білікультури  
Е. Виділення мієлокультури

3. При бактеріологічному дослідженні випорожнень чотиримісячної дитини з симптомами гострої кишкової інфекції на середовищі Ендо виростили у великій кількості червоні колонії. Які це можуть бути мікроорганізми?

- А. Шигели В. Сальмонели С. Стрептококи  
D. Стафілококи Е. Ешерихії

4. Враховуючи скарги хворого, дані об'єктивного обстеження і епідситуацію, лікар виставив попередній клінічний діагноз «Черевний тиф» і направив досліджуваний матеріал в бактеріологічну лабораторію. Пацієнт хворіє 2 дні. Яким методом мікробіологічної діагностики можна підтвердити діагноз?

- А. Мікроскопічним В. Бактеріологічним С. Серологічним  
D. Біологічним Е. Алергічним

5. В баклабораторії випорожнення хворого з підозрою на кишкову інфекцію посіяні на живильне середовище Ендо, на якому виростили колонії середніх розмірів, червоного кольору з металевим блиском. Для яких мікроорганізмів характерні вказані культуральні властивості?

- А. Кишечних паличок В. Холерного вібріона  
С. Дизентерійних паличок D. Сальмонел  
Е. Черевнотифозних бактерій

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: рішення початкових тестів.

2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики кишкових інфекцій. Вивчення схеми виділення чистої культури ешерихій і сальмонел.

3. Знайомство з правилами забору матеріалу від хворих на черевний тиф, мікроскопія готових зафіксованих мазків з чистої культури бактерій.

4. Виділення чистої культури *Salmonella typhi*: відбір безбарвних ізолюваних колоній, мікроскопія їх після забарвлення за Грамом і пересівання на середовище Реселя. Посів крові на жовчний бульйон.

5. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів. Зарисовка мікропрепаратів в протокол. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 26

**Тема:** Серодіагностика черевного тифу, паратифів А і В. Сальмонели - збудники гострих гастроентеритів.

**Мета:** Освоєння методів мікробіологічної діагностики сальмонельозів і серологічної діагностики черевного тифу і паратифів А і В.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 4.** Сальмонели.

**Актуальність теми.** Сальмонельоз - гостра кишкова інфекція, що характеризується переважним ураженням шлунково-кишкового тракту, збудниками якої є численні бактерії роду *Salmonella* (окрім *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. schottmuelleri*).

Таксономічне положення, морфологія і тинкторіальні властивості: див. в методичці 26.

Епідеміологія. Основне джерело захворювання - тварини, переважно домашні, і птахи. Рідше джерелами захворювання є люди - хворі і носії. Механізм зараження - фекально-оральний. Основний шлях передачі інфекції - харчовий. Чинниками передачі можуть бути не тільки м'ясо тварин і птахів, інфіковане за життя тварини або при його обробці, але і яйця. Найбільш сприйнятливі до захворювання люди з пониженим імунним статусом (зокрема грудні діти) і хворі, що одержують антибіотики. Підйом захворюваності спостерігається влітку.

Патогенез. Сальмонели проникають в організм через рот, досягають тонкого кишечника, де і розгортається патологічний процес. Бактерії завдяки чинникам адгезії прикріплюються до слизової оболонки, проникають в її глибокі шари, де захоплюються макрофагами. Сальмонели розмножуються і гинуть із звільненням ендотоксину, який, крім загальної інтоксикації, викликає діарею і порушення водно-сольового обміну. Мікрофлора кишечника, що знаходиться у нормальному стані, значною мірою перешкоджає накопиченню сальмонел. В деяких випадках (при зниженні імунного статусу і високій вірулентності збудника) можливий розвиток бактеріємії і ураження кісток, суглобів, мозкових оболонок і інших органів.

Клінічна картина. Інкубаційний період рівний в середньому 12-24 години. Захворювання характеризується підвищенням температури, нудотою, блювотою, проносом, боєм в животі. Як правило, тривалість хворо-

би складає 7 днів, але в деяких випадках спостерігається блискавична токсична форма, що приводить до смерті хворого.

Імунітет після перенесеного захворювання зберігається менше року.

Мікробіологічна діагностика. Основний матеріал для дослідження - блювотні маси, випорожнення, промивні води шлунку. Застосовують бактеріологічний і серологічний (РА, РПГА) методи діагностики.

Лікування сальмонельозу полягає в промиванні шлунку, дієті, введенні рідин для нормалізації водно-сольового обміну. Антибіотики при формах середньої тяжкості і легкій не призначають, оскільки їх застосування приводить до дисбактеріозу і, в результаті, тривалішого перебігу хвороби; крім того, дуже велике число антибіотикорезистентних сальмонел.

Профілактика неспецифічна - санітарно-гігієнічні заходи, що полягають, зокрема, в правильній кулінарній обробці м'яса і яєць.

Серологічна діагностика черевного тифу і паратифів А і В.

Для постановки діагнозу застосовується реакція аглютинації Відалю, заснована на виявленні в сироватці крові людей аглютининів, які з'являються в кінці 1-ого - початку 2-го тижня захворювання. Особливості реакції полягають в тому, що реакція ставиться одночасно з 4 різними діагностикумами (антигенами): ОН-діагностикумом черевного тифу, О-діагностикумом черевного тифу, ОН-діагностикумом паратифу А і ОН-діагностикумом паратифу В. Черевнотифозні монодіагностикуми застосовуються для встановлення стадії хвороби, оскільки вміст О- і Н-антитіл в різні її періоди неоднаковий. О-антитіла накопичуються в розпал захворювання і зникають до моменту одужання. Н-антитіла з'являються до кінця захворювання і зберігаються у тих, що перехворіли протягом тривалого часу.

Це допомагає диференціювати гостру стадію захворювання і «прищепну» або анамнестичну реакції.

У хворих на черевний тиф в сироватці крові визначаються О- і Н-антитіла, а в сироватці крові людей, що перенесли черевний тиф або вакцинованих проти нього, зберігаються тільки Н-антитіла.

Для серологічного дослідження реконвалесцентів і виявлення бактеріоносіїв широко використовують реакцію пасивної Vi-гемаглютинації (РПГА), за допомогою якої визначають Vi-антитіла в сироватці крові людей, що з'являються тільки в кінці захворювання, але що постійно виявляються у носіїв черевного тифу.

### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією представників сімейства Salmonella.
2. Описувати патогенез сальмонельозів.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики сальмонельозів.

4. Ознайомитися з методами серологічної діагностики черевного тифу, паратифів А і В.

5. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії черевного тифу, паратифів А і В.

6. Тракувати результати бактеріологічного і серологічного дослідження.

**Уміти:**

1. Проводити диференціацію сальмонел - збудників сальмонельозів.

2. Забирати матеріал для дослідження від хворих на сальмонельози.

3. Виділяти чисті культури сальмонел.

4. Тракувати результати бактеріологічного і серологічного дослідження.

**Теоретичні питання:**

1. Сальмонели - збудники харчових токсикоінфекцій.

2. Біологічні властивості.

3. Антигенна структура, фактори патогенності.

4. Патогенез і імуногенез захворювань. Бактеріоносійство.

5. Методи мікробіологічної діагностики сальмонельозів.

6. Специфічна профілактика і лікування сальмонельозів.

**Практичні завдання, що виконуються на занятті:**

1. Виділення чистої культури *S. typhi*.

2. Мікроскопія демонстраційних мікропрепаратів чистих культур *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*.

3. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів в протокол.

4. 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. – 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. – 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 вивчення методів мікробіологічної діагностики сальмонельозів і серологічної діагностики черевного тифу, паратифів А і В. Далі студенти знайомляться з правилами забору матеріалу від хворих на сальмонельози для бактеріологічного і серологічного дослідження. Потім продовжують виділення чистої культури *S. typhi*.

До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних мікропрепаратів чистих культур *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis* і замальовування їх в протокол.

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

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. З крові хворого виділена культура збудника черевного тифу. Які культуральні властивості характерні для цього збудника?

А. Утворення безбарвних або блідо-рожевих колоній на середовищі Ендо і Плоскирева

В. Утворення колоній червоного кольору з металевим блиском на середовищі Ендо

С. Утворення безбарвних колоній на вісмут-сульфіт агарі

Д. Утворення гемолізу на кров'яному агарі

Е. Утворення ніжної плівки на лужній пептонній воді

2. В інфекційну клініку поступив хворий з попереднім діагнозом «Сальмонельоз». Який метод мікробіологічної діагностики необхідно застосувати, щоб підтвердити або відхилити діагноз?

А. Бактеріологічний

В. Мікроскопічний

С. Алергічний

Д. Біологічний

Е. Серологічний

3. При плановому обстеженні працівників харчового підприємства на носійство збудника черевного тифу за допомогою реакції пасивної гемаглютинації виявлений титр антитіл проти Vi-антигену 1:80. Чи можна віднести цю людину до носіїв?

А. Так, це носій

В. Це хвора людина

С. Це розпал захворювання

Д. Це не носій

Е. Це гостра форма черевного тифу

4. Для серодіагностики черевного тифу ставлять реакцію, при якій до різних розведень сироватки хворого додають діагностичними трьох видів мікроорганізмів і результат якої оцінюють за наявністю осаду зі склеєних бактерій. Ця реакція відома під назвою:

А. Відаля В. Борде-Жангу С. Васермана Д. Райта Е. Асколі

5. У зв'язку з епідемічним станом необхідно провести імунізацію жителів селища В. проти черевного тифу. Яка вакцина використовується для специфічної профілактики черевного тифу?

А. Жива авірулентна В. Хімічна С. Анатоксин  
Д. Генно-інженерна Е. Всі відповіді не вірні

6. Від хворого з підозрою на харчову токсикоінфекцію з калу і блювотних мас були виділені мікроорганізми паличкоподібної форми, грамнегативні, в мазках розташовуються безладно, що ростуть на середовищі Реселя із зміною кольору в стовпчику, розщеплюють на середовищі Гісса глюкозу, манніт і мальтозу. Проведення якого додаткового дослідження дозволить визначити вид мікробів, що викликав це захворювання у хворого?

А. РЗК В. РА С. РПГА Д. Реакцію Відаля Е. РП

7. При мікробіологічному дослідженні м'ясного фаршу виділені бактерії, що відносяться до роду сальмонел. Вивчення яких властивостей мікробів, дозволило прийти до такого висновку?

А. Культуральних В. Тинкторіальних С. Антигенних  
Д. Протеолітичних Е. Сахаролітичних

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: рішення початкових тестів.

2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики сальмонельозів.

3. Вивчення схеми виділення чистої культури *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*.

4. Знайомство з правилами забору матеріалу від хворих на сальмонельоз.

5. Продовження виділення чистої культури *S. typhi*:

•вивчення посівів фекалій хворого на черевний тиф на середовищі Реселя;

•приготування мазків, забарвлення за Грамом, мікроскопія і замальовування;

•пересівання на середовище Гісса і МПБ для виявлення індола і сірководня.

6. Ознайомлення з постановкою реакції Відаля. Облік реакції.

7. Ознайомлення з постановкою реакції Vi-гемаглютинації.

8. Мікроскопія демонстраційних препаратів чистих культур *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis* і їх замальовування.

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

10. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 27

**Тема: Методи мікробіологічної діагностики шигельозів.**  
**Мета: Вивчення методів мікробіологічної діагностики, етіотропної терапії і профілактики шигельозів.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні проکاریоти і еуکاریоти.

**Тема 5.** Шигели.

**Актуальність теми.** Шигельози поширені повсюдно і представляють серйозну проблему в країнах з низьким санітарним і культурним рівнем і великою частотою випадків недостатнього і неякісного харчування. У країнах, що розвиваються, розповсюдженню інфекції сприяють низький санітарний рівень, недотримання правил особистої гігієни, перенаселеність і велика частка дітей серед населення. В Україні спалахи шигельоза частіше зустрічаються в закритих колективах на тлі низького рівня санітарії і гігієни, наприклад, в дитячих яслах і садах, на туристичних судах, в психіатричних клініках або притулках для інвалідів. Шигели є причиною діареї мандрівників і туристів.

Шигельоз - гостра бактерійна інфекція кишечника, що викликається одним з чотирьох видів шигел. Спектр клінічних форм інфекції включає і легку, водянисту діарею, і важку дизентерію, для якої характерні переймоподібні болі в області живота, тенезми, лихоманка і ознаки загальної інтоксикації.

Етіологія. Рід *Shigella* (отримав назву за іменем Д. Шига, який в 1898 р. детально вивчив і описав виділений збудник бактерійної дизентерії А. В. Григор'євим) сімейства *Enterobacteriaceae* складається з групи тісно пов'язаних видів бактерій, що мають наступні властивості:

I. Морфологічні: шигели - невеликі палички із закругленими кінцями. Відрізняються від решти представників сімейства *Enterobacteriaceae* відсутністю джгутиків (нерухомі), не мають спор і капсул, грамнегативні.

II. Культуральні: шигели - це аероби або факультативні анаероби; оптимальні умови культивування - температура 37 °С, рН 7,2-7,4. Ростуть на простих живильних середовищах (МПА, МПБ) у вигляді невеликих, блискучих, напівпрозорих, сіруватих, круглих колоній, розміром 1,5-2 мм в S-формі. Виключенням є шигели Зоне, які часто дисоціюють, утворюючи великі, плоскі, каламутні, з порізаними краями колонії R-форми (колонії мають вид "виноградного листа"). У рідких живильних середовищах шигели дають рівномірне помутніння, R-форми утворюють осад. Рідким середовищем збагачення є селенітовий бульйон.

III. Ферментативні: основними біохімічними ознаками, необхідними для ідентифікації шигел при виділенні чистої культури є наступні:

1. Відсутність газоутворення при ферментації глюкози;
2. Відсутність продукції сірководня;
3. Відсутність ферментації лактози протягом 48 годин.

В цілому чотири види розділяються далі приблизно на 40 серотипів. За характеристиками основних соматичних (O) антигенів і біохімічних властивостях виділяють наступні чотири види або групи:

- *S. dysenteriae* (група А, включає: Григор'єва-Шигі, Штутцера-Шмітца, Лардж-Сакса),
- *S. flexneri* (група В),
- *S. boydii* (група С),
- *S. sonnei* (група D).

За відношенням до манніту всі шигели діляться на тих, що розщеплюють (шигели Флекснера, Бойда, Зоне) і не розщеплюють (шигели Григор'єва-Шигі, Штутцера-Шмітца, Лардж-Сакса) манніт.

IV. Фактори патогенності: плазмідна інвазії; токсиноутворення.

V. Антигенна структура: всі шигели володіють соматичним O-антигеном, залежно від будови якого відбувається їх підрозділ на серовари.

VI. Резистентність: Температура 100 °C вбиває шигели миттєво. До низьких температур шигели стійкі - в річковій воді вони зберігаються до 3-х місяців, на овочах і фруктах - до 15 місяців. За сприятливих умов шигели здатні до розмноження в харчових продуктах (салатах, вінегретах, вареному м'ясі, фарші, вареній рибі, молоці і молочних продуктах, компотах і киселях), особливо шигели Зоне.

Епідеміологія. Джерело інфекції: людина, що хворіє на гостру і хронічну форму шигельоза; бактеріоносії.

Шляхи передачі: харчовий (переважно для *S. sonnei*), водний (переважно для *S. flexneri*), контактнo-побутовий (переважно для *S. dysenteriae*)

Вхідними воротами інфекції служить шлунково-кишковий тракт.

Патогенез і патологічні зміни. Після заковтування шигели колонізують верхні відділи тонкої кишки і розмножуються там, можливо, викликаючи підвищену секрецію на ранній стадії інфекції. Потім шигели пенетрують через M-клітини в слизову оболонку, де поглинаються макрофагами. Це приводить до загибелі частини шигел, слідством чого є виділення медіаторів запалення, які і ініціюють запалення в слизовій оболонці. Апоптоз фагоцитів дозволяє іншій частині шигел зберегтися і проникнути в епітеліальні клітини слизової оболонки через базальну мембрану. Усередині ентероцитів відбувається розмноження шигел і їх міжклітинне розповсюдження, слідством чого є розвиток ерозій. При загибелі шигел відбуваєть-

ся виділення шига- і шигаподібних токсинів, дія яких приводить до інтоксикації. Ураження слизистої оболонки супроводжується набрякністю, некрозами і геморагіями, що обумовлює появу крові у випорожненнях. Крім того, токсин впливає на ЦНС, що приводить до трофічних розладів.

Клінічні прояви. Спектр клінічних проявів шигельозів вельми широкий - від легкої діареї до важкої дизентерії з переймоподібними болями в області живота, тенезмами, лихоманкою і загальною інтоксикацією.

Інкубаційний період коливається від декількох годин до 7 діб, найчастіше складає 2-3 дні. Спочатку у хворих спостерігаються водянистий стілець, лихоманка (до 41 °С), розлиті болі в області живота, нудота і блювота. Разом з цим хворі скаржаться на міалгії, озноби, болі в поперековій ділянці і головний біль. В найближчий день від початку захворювання з'являються ознаки дизентерії - тенезми, частий, мізерний, кров'яно-слизистий стілець. Температура тіла поступово знижується, болі можуть локалізуватися в нижніх квадрантах живота. Інтенсивність діареї досягає максимуму приблизно до кінця 1-го тижня хвороби. Дизентерія з кров'яним стільцем зустрічається частіше і з'являється раніше при захворюванні, викликаному *S. dysenteriae* тип I, чим при інших формах шигельозів.

Для шигельоза Зоне характерний легший перебіг хвороби (гастроентеритичний або гастроентероколітичний варіант). Гарячковий період менш тривалий, явища інтоксикації короткочасні, а деструктивні зміни у слизовій оболонці кишечника не характерні.

Шигельозу Флекснера в основному властиві два варіанти клінічного перебігу - гастроентероколітичний і колітичний.

Імунітет: у людини є природна резистентність до шигельозної інфекції. Після перенесеного захворювання імунітет не стійкий, а після шигельозу Зоне - практично відсутній. При захворюванні, викликаному шигелами Григор'єва-Шигі виробляється стійкіший антитоксичний імунітет. У захисті від інфекції основна роль належить секреторним IgA, що запобігають адгезії, і цитотоксичної антигілозалежної активності інтраепітеліальних лімфоцитів, які разом з секреторними IgA знищують шигели.

Діагностика і лабораторні дослідження.

Мета дослідження: виявлення і ідентифікація шигел для постановки діагнозу; виявлення бактеріоносіїв; виявлення шигел в харчових продуктах. Матеріал для дослідження: випорожнення, секційний матеріал, харчові продукти.

Методи діагностики: мікробіологічний (бактеріологічний), мікроскопічний (люмінесцентна мікроскопія); серологічний; біологічний; алергопроба.

Хід дослідження.

1 день дослідження. Посіви слід робити зі свіжовиділених фекалій або з використанням ректальних тампонів (ректальною трубкою); за відсутності відповідних умов матеріал необхідно помістити в середовище для транспортування. Для цього слід використовувати кишковий агар (середовище Мак-Конкі або Шигела-Сальмонела), помірно селективний агар ксилоза-лізин-дезоксихолат (КЛД) і живильний бульйон (селенітовий бульйон). Якщо час між забором і посівом перевищує 2 год, то слід скористатися консервуючими розчинами: 20 % жовчний бульйон, комбіноване середовище Кауфмана.

Випорожнення в гліцериновій суміші емульгують, краплю емульсії наносять на середовище і шпателем втирають її. Диференціальними середовищами для шигел є середовища Плоскирева, Ендо і ЕМС (агар з еозин-метиленовим синім). Середовище Плоскирева (до складу середовища входять: МПА, лактоза, солі жовчних кислот і індикатор - діамантовий зелений) одночасно є і елективним середовищем для шигел, оскільки пригнічує зростання кишкової палички.

Паралельно з прямим посівом зібраний матеріал засівають на середовище збагачення - селенітовий бульйон.

Всі посіви ставлять в термостат.

2 день дослідження.

Чашки виймають з термостата, підозрілі колонії відсівають на середовище Реселя (живильне середовище до складу якого входять: агар-агар, індикатор Андреде, 1 % лактози, 0,1 % глюкози) і манніт. Посів проводять штрихами по скошеній поверхні і уколом в агаровий стовпчик. Середовище Реселя поміщають в термостат на 18-24 год (паралельно роблять пересівання з селенітового середовища на диференціально-діагностичні середовища).

Роблять мазки (забарвлення за Грамом), мікроскопують.

Готують препарати «висяча» або «надавлена» крапля.

Постановка орієнтовної РА з полівалентними діагностичними шигельозними сироватками.

Посів підозрілих колоній на скошений агар.

3 день дослідження.

Мікроскопія матеріалу зі скошеного агару.

Культури, що не ферментували лактозу на середовищі Реселя, піддають подальшому вивченню: роблять мазки (забарвлення за Грамом), перевірку чистоти культури. За наявності грамнегативних паличок проводять посів на середовища Гісса, бульйон з індикаторними папірцями (для виявлення індола і сірководня) і на лакмусове молоко.

Середовища, що засівають, ставлять в термостат на 18-24 год.

4 день дослідження.

Облік короткого «строкатого ряду».

Культури, схожі за своїми ферментативними і культуральними властивостями на шигели, піддають серологічній ідентифікації. Постанова РА на склі (типові і групові діагностичні сироватки). Постанова розгорненої РА.

Як прискорені методи при шигельозах застосовують люмінісцентну мікроскопію і біологічну пробу (введення вірулентних штамів шигел в кон'юнктивальний мішок (під нижню повіку) морським свинкам - до кінця 1-ої доби розвивається кон'юнктивіт).

Лікування і профілактика. Для лікування і для профілактики за епідеміологічними показаннями використовується бактеріофаг орального застосування, антибіотики після визначення антибіотикограми; у разі виникнення дисбактеріозу - препарати пробіотиків для корекції мікрофлори.

#### **Конкретні цілі:**

1. Інтерпретувати біологічні властивості збудників шигельозів.
2. Ознайомитися з класифікацією шигел.
3. Навчитися трактувати патогенетичні закономірності інфекційного процесу, викликаного шигелами.
4. Визначити методи мікробіологічної діагностики, етіотропної терапії і профілактики шигельозів.

#### **Уміти:**

1. Здійснити посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища.
2. Приготувати мазки і офарбувати за Грамом.
3. Провести мікроскопію препаратів за допомогою імерсійного мікроскопа.
4. Аналізувати морфологічні, культуральні, ферментативні ознаки шигел.

#### **Теоретичні питання:**

1. Характеристика збудників шигельозів. Біологічні властивості.
2. Класифікація шигел. Принципи, покладені в основу.
3. Епідеміологія, патогенез і клінічні особливості шигельозів.
4. Лабораторна діагностика.
5. Принципи лікування і профілактики шигельозів.

#### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів з чистих культур збудників шигельозів.
2. Робота по бактеріологічній діагностиці шигельозів: вивчення посівів фекалій на середовищі Плоскирева.
3. Пересівання підозрілих колоній на середовище Реселя і на МПБ для визначення індолоутворення і  $H_2S$ .

4. Зарисовка демонстраційних препаратів і схеми мікробіологічної діагностики шигельозів в протокол заняття.

5. 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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

#### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з вивчення класифікації шигел, розбору схеми патогенетичних і клінічних ознак шигельозів. Вивчення методів лабораторної діагностики шигельозів. Студенти здійснюють посів біоматеріалу на живильні середовища. Потім готують мікропрепарати, офарблюють їх за Грамом, проводять мікроскопію, замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка в протокол заняття. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз підсумкових результатів самостійної роботи кожного студента.

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. Від хворої на гостру кишкову інфекцію дитини отримали фекалії (збір випорожнень проводили ректальною трубкою), що містять слиз, гній. Який метод експрес-діагностики необхідно застосувати?

А. ІФА      В. РІФ      С. РА      D. РЗК      E. РІА

2. Від хворої дитини з гострою кишковою інфекцією виділений збудник дизентерії. Які морфологічні ознаки характерні для збудника?

А. Грамнегативна нерухома паличка

В. Грампозитивна рухома паличка

С. Утворює капсулу на живильному середовищі

D. Утворює спори в зовнішньому середовищі

Е. Грампозитивні стрептобацили

3. У пацієнта, що захворів три дні тому і скаржиться на температуру 38 °С, болі в животі, частий рідкий стілець, присутність крові в калі, лікар клінічно діагностував бактерійну дизентерію. Який метод мікробіологічної діагностики доцільно застосувати в цьому випадку і який матеріал треба взяти від хворого для підтвердження діагнозу?

- А. Бактеріоскопічний - кал  
В. Бактеріологічний - кал  
С. Бактеріоскопічний - кров  
D. Бактеріологічний - сечу  
Е. Серологічний - кров

4. З фекалій хворого виділені шигели Зоне. Які необхідно провести додаткові дослідження для встановлення джерела інфекції?

- А. Провести фаготипування виділеної чистої культури.  
В. Визначити антибіотикограму  
С. Поставити реакцію преципітації  
D. Поставити реакцію зв'язування комплементу  
Е. Поставити реакцію нейтралізації

5. Серед групи туристів (27 чоловік), які використовували для пиття воду з озера, через два дні у 7 чоловік з'явилися симптоми гострої діареї. Який матеріал для встановлення етіології даного захворювання необхідно направити в баклабораторію?

- А. Воду, випорожнення хворих  
В. Воду, кров хворих  
С. Харчові продукти  
D. Сечу  
Е. Мокроту

6. Істотний недолік мікроскопічного методу діагностики при гострих кишкових інфекціях - його недостатня інформативність у зв'язку з морфологічною ідентичністю бактерій сімейства Enterobacteriaceae. Що дозволяє підвищити інформативність цього методу?

- А. Радіоімунний аналіз  
В. Реакція Кумбса  
С. Імуноферментний аналіз  
D. Реакція опсонізації  
Е. Реакція імунофлюоресценції

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення біологічних властивостей шигел.
2. Ознайомлення з класифікацією шигел.
3. Розбір схеми патогенетичних і клінічних проявів шигельозів.
4. Вивчення методів лабораторної діагностики шигельозів.
5. Вивчення основних принципів терапії і профілактики шигельозів.
6. Приготування фіксованих препаратів з бактерійної культури.
7. Фарбування мікропрепаратів за Грамом.
8. Мікроскопія мікропрепаратів за допомогою імерсійного мікроскопа, їх аналіз і зарисовка в протокол заняття.
9. Зарисовка демонстраційних препаратів і схеми лабораторної діагностики шигельозів в протокол. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 28

**Тема: Методи мікробіологічної діагностики холери.**

**Мета: Вивчити методи лабораторної діагностики холери.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 7.** Вібріони (сімейство *Vibrionaceae*).

**Актуальність теми.** Збудниками холери - гострого інфекційного захворювання з тенденцією до широкого розповсюдження, важкого гастроентериту, що характеризується різким зневодненням і важкою інтоксикацією, є два біовари *Vibrio cholerae*: біовар *cholerae* і біовар *eltor*. На початку 1993 року спалах холери в південно-східній Азії був викликаний вібріонами невідомої серогрупи, позначеними як серовар O139 (Бенгал).

Вид *V. cholerae* має 4 біовари: *cholerae*, *eltor*, *proteus* (вібріон Мечникова), *albensis* (вібріон, що світиться). Холеру у людини викликають біовари *cholerae* і *eltor*. Вібріон Мечникова викликає гастроентерит. *V. cholerae albensis* виявляється у воді, випорожненнях і жовчі людини.

**Морфологія.** Холерні вібріони мають вид рухомих зігнутих або прямих паличок. Рухливість обумовлена полярним джгутиком. Грамнегативні, спор і капсул не утворюють.

**Культуральні властивості.** Аероб, добре росте при 37 °С на простих живильних середовищах, але вимогливий до рН середовища, росте на лужних середовищах (8,5-9,0). На 1 % пептонній воді утворює легке помутніння середовища і плівку, на лужному агарі - прозорі колонії з рівним краєм. Мікроб не вимогливий до живильних середовищ, росте швидко: на 1 % пептонній воді зростання у вигляді плівки з'являється через 4-6 годин.

**Біохімічні властивості.** Холерні вібріони активні в біохімічному відношенні. Ферментація маннози, сахарози і арабінози (тріада Хейберга) має діагностичне значення: холерні вібріони *V. cholerae* і *V. eltor* розкладають тільки маннозу і сахарозу і не розщеплюють арабінози. На підставі біохімічних і біологічних відмінностей холерні вібріони розділяють на 2 біовари: класичний (*V. cholerae asiatica*) і Ель-Тор (*V. cholerae eltor*).

**Антигенна структура.** У холерних вібріонів виділяють термостабільні О- і термолабільні Н-антигени. За О-антигеном вібріони розділяються на декілька груп. Збудники класичної холери і холери Ель-Тор об'єднуються в О1 серогрупу, і не дивлячись на існуючі біохімічні відмінності, при дослідженні на холеру обов'язково проводять типування О1 антисироваткою. О-антиген О1 групи холерних вібріонів неоднорідний, включає три ком-

поненти - А, В, С, різні поєднання яких утворюють серовари: Огава, Інаба, Гікошима.

Токсигенність і патогенність. Холерний вібріон володіє двома типами токсинів - ендотоксином і екзотоксином або ентеротоксином. Ендотоксин – термостабільний, ЛПС (ліпополісахарид) клітинної стінки, індукує синтез віброцидних АТ. Основна роль в розвитку симптомів холери (ентерит з рясним водянистим стільцем і подальшим розвитком зневоднення організму) належить ентеротоксину або холерогену. Энтеротоксин - термолабільний білок, резистентний до дії протеолітичних ферментів. Складається з двох білкових компонентів - А і В, компонент В практично нетоксичний, володіє здатністю з'єднуватися зі специфічним рецептором мембрани епітеліальних клітин тонкого кишечника. Рецептором, що зв'язує компонент В, є гангліозид. Компонент А - токсичний, викликає активацію аденілатциклази, що веде до збільшення цАМФ (циклічний АМФ) і відповідно до гіперсекреції солей і виходу з клітин води, тобто до виникнення одного з характерних симптомів холери.

Єдиний природний резервуар - хворі і бактеріоносії; основний шлях передачі - фекально-оральний, рідше - контактний. Фактори передачі - харчові продукти, вода. Певну роль грають мухи, здатні переносити збудник з випорожнень на харчові продукти.

Патогенез. Потрапивши в організм людини, велика частина вібріонів гине під дією кислого середовища шлунку. Лише невелика частина їх досягає тонкої кишки. У відповідь на проникнення бактерій епітеліальні клітини виділяють лужний секрет, насичений жовчю, - ідеальне середовище для розмноження збудника.

Клінічні прояви холери обумовлює токсинуотворення. Основна роль належить ентеротоксину, який активізує аденілатциклазу слизової оболонки кишечника, що сприяє збільшенню кількості цАМФ і виходу солей і води в просвіт кишечника. Залежно від ступеня інтоксикації, симптоматика може мати характер гастроентериту. У важких випадках у хворих розвивається холерний алгід на тлі порушення електролітного балансу.

Матеріал для дослідження. Випорожнення, блювотні маси, жовч, секційний матеріал (фрагменти тонкої кишки), стічні води, вода, харчові продукти, мухи.

Лабораторна діагностика. Основу складають виділення і ідентифікація збудника. Але оскільки холера - особливо-небезпечна інфекція, то спочатку з випорожнень готують мазки. Одні мазки фарбують за Грамом, інші обробляють специфічною люмінесцентною сироваткою для РІФ. На цьому етапі дослідження отримують первинну орієнтовну відповідь. РІФ застосовують для прискореної (експрес) діагностики. Для проведення бактеріологічного дослідження матеріал рекомендується засівати одночасно на

1 % пептонну воду і на лужний агар. Через 12-24 години відбирають круглі прозорі з рівними краями, голубуваті в світлі, що проходить, колонії, пересівають на лактозо-цукрове середовище, ставлять РА з О1 холерною сироваткою. Одночасно проводять диференціацію від інших вібріонів за біохімічними властивостями. Для епідеміологічного дослідження у культурі визначають її фаговар з набором специфічних фагів.

**Профілактика.** Для специфічної імунопрофілактики були запропоновані різні вакцини, зокрема з убитих штамів Інаба і Огава, холероген-анатоксин для підшкірного застосування і ентеральна хімічна бівалентна вакцина, що складається з анатоксина і соматичних антигенів серотипів Інаба і Огава. Тривалість поствакцинального імунітету складає не більше 6-8 міс., тому щеплення проводять тільки за епідеміологічними показаннями. У вогнищах холери проводиться антибіотикопроділактика тетрацикліном.

### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити морфологію, культуральні і біохімічні властивості холерного вібріона, знати холерні вібріони, патогенні для людини.
2. Вивчити патогенез, клініку холери.
3. Знати, який матеріал необхідно забирати від хворого на холеру для дослідження.
4. Вивчити методи лабораторної діагностики холери.
5. Знати біологічні препарати для діагностики, профілактики і лікування холери.

### **Уміти:**

1. Готувати мазки з культури холерного вібріона, фарбувати за Грамом, описувати їх морфологію.
2. Диференціювати патогенні вібріони від непатогенних за антигенною структурою і біохімічними властивостями.
3. Диференціювати біовари класичного вібріона і вібріона Ель-Тор.
4. Робити забір матеріалу від хворого на холеру.
5. Проводити експрес-діагностику і виділяти чисту культуру вібріона, трактувати результати лабораторних досліджень.

### **Теоретичні питання:**

1. Характеристика роду *Vibrio*: морфологія, патогенні представники.
2. Культуральні особливості вібріонів.
3. Біохімічні особливості вібріонів. Диференціація патогенних і непатогенних вібріонів.
4. Антигенна структура. Класифікація вібріонів за антигенною структурою. Токсиноутворення. Патогенність. Механізм дії екзотоксину.
5. Джерело інфекції. Шляхи зараження холерою. Патогенез. Матеріал для дослідження.

6. Лабораторна діагностика холери. Експрес-діагностика, виділення чистої культури.

7. Лікування холери. Специфічна профілактика холери.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті.**

1. Приготування мазків з чистої культури вібріона. Забарвлення за Грамом, мікроскопія, зарисовка в протокол.

2. Посів випорожнень і блювотних мас хворого в 1 % пептонну лужну воду і на лужний агар.

3. Вивчення посівів в 1 % пептонній лужній воді і на лужному агарі.

4. Вивчення біологічних препаратів для діагностики, профілактики і лікування холери.

5. 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. – 691 с.

**Додаткова література:**

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

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

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

Самостійна робота починається з вивчення схеми лабораторної діагностики холери. Далі студенти виконують практичну роботу, яка складається з вивчення морфології вібріона в готовому зафіксованому мазку, спостерігають рухливість вібріона у фазово-контрастному мікроскопі.

Потім студенти вивчають посіви фекалій хворого на холеру на 1 % пептонну воду і лужний агар. Описують ознаки росту на живильних середовищах, готують мазки, фарбують їх за Грамом, мікроскопують, ставлять РА на склі з О1 холерною сироваткою.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. В інфекційне відділення поступив хворий з блювотою і розвитком вираженого діарейного синдрому. Попередній діагноз “холера”. Вкажіть фактори, що обумовлюють розвиток діареї при холері.

А. Інвазія епітелію кишечника

В. Циркуляція вібріона в крові

- C. Утворення дефектів кишкової стінки
- D. Дія ендотоксину
- E. Дія екзотоксину

2. В лабораторії особливо-небезпечних інфекцій з фекалій хворого на холеру виділений класичний холерний вібріон. За якими основними властивостями типують збудників класичної холери?

- A. Чутливість до бактеріофагів Ель-Тор
- B. Потребність у високих концентраціях NaCl
- C. Гемолітична активність
- D. Чутливість до бактеріофага IV групи по Мукерджі
- E. Ні один з них

3. В лабораторію особливо-небезпечних інфекцій поступили випорожнення від хворого з діагнозом "гострий гастроентерит", що дає підставу підозрювати холеру. Який з перерахованих методів дослідження на холеру відноситься до експрес-методів?

- A. Проба з бактеріофагом
- B. Вивчення біохімічних властивостей
- C. РІФ
- D. РЗК
- E. Виділення чистої культури вібріона

4. В лабораторію особливо-небезпечних інфекцій доставлені блювотні маси і випорожнення хворого з підозрою на холеру. На які живильні середовища слід зробити посів для виділення чистої культури вібріона?

- A. Цукровий МПБ
- B. 1 % пептонну лужну воду і лужний агар
- C. Середовище Ендо
- D. Жовчний бульйон
- E. Напіврідкий МПА

5. В районах епідемічної небезпеки рекомендується призначати антибіотики з метою профілактики холери серед населення. Який з перерахованих препаратів використовують в подібній ситуації?

- A. Пеніцилін
- B. Стрептоміцин
- C. Тетрациклін
- D. Бісептол
- E. Левоміцетин

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: рішення початкових тестів.

2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики холери.

3. Вивчення схеми виділення чистої культури холерного вібріона.

4. Знайомство з правилами забору матеріалу від хворих на холеру.

5. Приготування мазків з чистої культури вібріона. Забарвлення за Грамом, мікроскопія, зарисовка в протокол.

6. Посів випорожнень і блювотних мас та вивчення посівів у 1 % пептонній лужній воді і на лужному агарі.

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

8. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 29

**Тема: Мікробіологічна діагностика дифтерії.**

**Мета: Вивчення групи коринебактерій і лабораторної діагностики дифтерії.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 8.** Коринебактерії (сімейство *Corynebacteriaceae*).

**Актуальність теми.** *Corynebacterium diphtheriae* (паличка Клебса-Лефлера) - збудник дифтерії - гострого інфекційного захворювання дихальних шляхів і шкірних покривів, що характеризується утворенням фібринозних плівок і загальною інтоксикацією. Збудник дифтерії - *Corynebacterium* належить до сімейства *Corynebacteriaceae*.

Морфологія. Тонкі, злегка зігнуті або прямі палички із закругленими кінцями, розміром від 1 до 12 мкм, часто потовщені на кінцях і нагадують булаву (*coryne* - булава). Спор і капсул не утворюють, на поверхні мають фімбрії, що полегшують адгезію до епітелію слизистої оболонки. Характерний виражений поліморфізм (разом з типовими формами можна виявити карликові, коковидні, товсті з колбовидними потовщеннями на кінцях, ниткоподібні).

У мазках клітини розташовуються під кутом один до одного (римськими цифрами V і X), що відрізняє їх від несправжньодифтерійних бактерій, які в мазках розташовуються паралельно один до одного (у вигляді частоколу).

У *Corynebacterium diphtheriae* виділяють три біовари - *gravis*, *mitis*, *intermedius*, що розрізняються за морфологією, культуральними і біохімічними властивостями. *Gravis* - короткі неправильної форми, з невеликою кількістю гранул, *mitis* - довгі, зігнуті поліморфні палички, що містять багато зерен волютинина (тельця Бабеша-Ернста), *intermedius* - великі з бочкоподібними контурами, мають поперечні перегородки, що розділяють клітину на декілька сегментів.

Волутинові зерна виявляють забарвленням метиленовим синім або за Нейссером.

Культуральні і біохімічні властивості. Факультативні анаероби, добре ростуть при вільному доступі кисню. Температурний оптимум 37 °С. На простих живильних середовищах ростуть погано, на сироваткових (Лефлера) дають зростання вже через 10-12 годин. Вирощують на телуритовому середовищі - Тінсдаля-Садикової (елективно-диференційно-діагностичне середовище - коринебактерії високорезистентні до телуриту

калія або натрія, який інгібує зростання контамінуючої мікрофлори). На даний час використовують телурит-шоколадний агар Маклеода і кров'яно-телуристовий агар. Утворюють сірувато-чорні колонії. S тип характерний для *mitis*, SR- для *gravis*.

На сироватці, що згорнулася, утворюють крупні перламутрово-сірі колонії (на цьому середовищі не можна диференціювати типи, але дуже добре видно зерна волютина, що відрізняє їх від несправжньодифтерійних бактерій). На рідких середовищах - помутніння і осад, характер якого варіює у різних біоварів.

Біохімічна активність. Ферментують до кислоти глюкозу, мальтозу, галактозу. Не ферментують сахарозу, лактозу, манніт, не утворюють індол, не гідролізують сечовину. Продукують каталазу, гіалуронідазу, цистиназу, нейрамінідазу.

Токсиноутворення. *Corynebacterium diphtheriae* продукує могутній екзотоксин, нетоксигенні штами захворювання не викликають. Токсин інгібує білковий синтез, у тому числі і в міокарді, приводячи до структурних і функціональних порушень, здатних викликати смерть хворого. Крім того викликає демієлінізацію нервових волокон, що часто приводить до паралічів і парезів.

Здатність до токсинутворення проявляють лише лізогенні штами *C. diphtheriae*, інфіковані бактеріофагом, що несе ген *tox*.

Антигенна структура. Визначення антигенного складу проводять в РА. Виділяють O- і K-антигени. K-антигени забезпечують видову специфічність. За допомогою анти-K-сироваток дифтерійні бактерії розділяють на серологічні варіанти.

Відповідно до антигенної структури запропоновано декілька варіантів класифікацій. Найбільшого поширення набула класифікація Робінсона і Піні. Великого поширення набула РПГА.

#### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити морфологію, культуральні, біохімічні і антигенні властивості коринебактерій - збудників дифтерії.
2. Вивчити джерела, шляхи передачі і деякі клінічні прояви дифтерії.
3. Ознайомитися з методами лабораторної діагностики дифтерії.
4. Визначити значення токсину в розвитку дифтерії. Пояснити поняття "анатоксин" і "антитоксин". Особливості імунітету при дифтерії.
7. Ознайомлення з методами і засобами профілактики і лікування дифтерії.

#### **Уміти:**

1. Відрізнити дифтероїди від коринебактерій - збудників дифтерії в забарвлених мікропрепаратах.

2. Здійснювати титрування антитоксичної сироватки за методом Ра-мона.

**Теоретичні питання:**

1. Характеристика групи коринебактерій (особливості морфології).
2. Видовий склад групи коринебактерій, роль в житті людини.
3. Морфологічні ознаки істинних і несправжніх коринебактерій
4. Біологічні типи коринебактерій.
5. Обґрунтування бактеріологічної діагностики дифтерії.
6. Мікробіологічна діагностика дифтерії.
7. Особливості і характер імунітету.
8. Властивості дифтерійного токсину.
9. Отримання і титрування антитоксичної сироватки.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Вивчення морфології збудників дифтерії в мікропрепаратах.
2. Вивчення культуральних і біохімічних властивостей різних біо-типів коринебактерій.
3. Титрування антитоксичної 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. – 691 с.

**Додаткова література:**

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

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті:**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з фарбування мазків чистої культури коринебактерій і вивченні морфології збудника в мікропрепаратах. Зарисовка демонстраційних препаратів і схеми лабораторної діагностики дифтерії.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. В дитячому саду проводили вакцинацію дітей проти дифтерії. Який препарат використовували для цього?

А. АКДС

В. БЦЖ

С. Вакцину Себіна

Д. Вакцину Смородинцева

Е. Протидифтерійну сироватку

2. В лабораторію направлені виділення зіву і носа від хворого з підозрою на дифтерію. На яке з перерахованих живильних середовищ слід зробити посів для виділення чистої культури палички дифтерії?

- A. Кітта-Тарощі      В. Ендо      С. Тінсдаля-Садикової  
D. Мак-Коя      Е. Гісса

3. Хворому інфекційного відділення поставили діагноз «дифтерія». У мазках з мигдалини цього хворого були знайдені палички синього кольору з волутиновими зернами на полюсах. Який метод забарвлення мазків був застосований?

- A. Буррі      В. Романовського-Гімзи  
C. Грама      D. Нейссера  
E. Леффлера

4. З носоглотки дитини 5 років був виділений мікроорганізм, який за своїми морфологічними і біохімічними властивостями ідентичний *Corynebacterium diphtheriae*, але не виробляє екзотоксин. В результаті якого процесу цей мікроорганізм може стати токсигенним?

- A. Культивування на телуритовому середовищі  
B. Фагової конверсії  
C. Пасажа через організм чутливих тварин  
D. Хромосомних мутацій  
E. Вирощування у присутності антитоксичної сироватки.

5. В дитячому відділенні інфекційної клініки хлопчик захворів на дифтерію. Який препарат необхідно ввести хворому в першу чергу?

- A. Дифтерійний анатоксин      В. АКДП      С. АДП  
D. Полівалентну сироватку      E. Дифтерійну антитоксичну сироватку

**Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Етіологія і епідеміологія дифтерії.
2. Вивчення морфології, культуральних і токсигенних властивостей збудників дифтерії.
3. Поняття про токсигенні і нетоксигенні штами.
4. Методи діагностики дифтерії.
5. Ознайомлення з препаратами, які призначені для профілактики і лікування дифтерії.
6. Поняття про анатоксин і антитоксин.
7. Титрування антитоксичної сироватки і визначення її дози. Методи введення антитоксичної сироватки.
8. Проглядання демонстраційних препаратів.
9. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 30

**Тема: Мікробіологічна діагностика туберкульозу.**

**Мета: Освоєння методів мікробіологічної діагностики туберкульозу.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 9.** Мікобактерії (сімейство *Mycobacteriaceae*).

**Актуальність теми.** В Україні, як і у всьому світі, спостерігається зростання захворюваності на туберкульоз, от чому вивчення збудника даного захворювання є край важливим для сучасного лікаря.

Збудники туберкульозу відносяться до сімейства *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. Для людини патогенними є *Mycobacterium tuberculosis* і *M. bovis*.

**Морфологія і фізіологія.** Збудники є прямими або злегка зігнутими паличками, спор і капсул не утворюють, нерухомі, за Грамом забарвлюються позитивно. Кислото- і лугостійкі завдяки високому вмісту ліпідів і ліполової кислоти в клітинній стінці, що дозволяє офарблювати їх за методом Циль-Нільсена.

Збудники туберкульозу культивуються тільки на складних живильних середовищах, що містять гліцерин, картопляну муку, яєчний жовток (гліцериновий бульйон, середовища Левенштайна-Йенсена і Петраньяні). На щільних живильних середовищах *Mycobacterium tuberculosis* утворює сухуваті колонії з шорстким краєм. На рідких живильних середовищах - плівку. Ростуть поволі до 25 - 40 днів. Аероб.

**Токсинутворення і патогенність.** Мікобактерії туберкульозу не утворюють екзотоксинів, в патогенній дії на організм провідне значення мають ліпіди, зокрема фосфатиди, жирні кислоти і воски. Характерною властивістю вірулентних штамів *Mycobacterium tuberculosis* є здібність до утворення корд-фактора.

**Патогенез.** Зараження здорової людини відбувається повітряно-краплинним, контактним або аліментарним шляхом (через некип'ячене молоко великої рогатої худоби). Первинний осередок ураження туберкульозом в більшості випадків виникає в легенях і характеризується запальним процесом з подальшим розвитком лімфангоїту і регіонарного лімфаденіту. Утворюється первинний туберкульозний комплекс. При доброякісному перебігу первинного туберкульозного комплексу уражена ділянка кальцифікується і рубцюється. Якщо резистентність організму понижена,

може розвиватися прогресуючий процес у вигляді хронічного первинного туберкульозу.

Туберкульозу властиві такі клінічні форми: туберкульоз органів дихання, кишечника, органів сечостатевої системи, кісток.

Лабораторна діагностика. Для виявлення збудника туберкульозу застосовують мікроскопію мазків забарвлених за Цилям-Нильсенем. Цей метод розглядають як орієнтування. Основний метод - бактеріологічний, дозволяє отримати чисту культуру збудника і ідентифікувати її. Сучасними методами діагностики туберкульозу є ІФА, ПЛР. Для виявлення осіб, інфікованих на туберкульоз, при відборі кандидатур для ревакцинації, для оцінки активності туберкульозного процесу ставлять внутрішньошкірну пробу Манту з очищеним протейновим дериватом (PPD).

Імунітет при туберкульозі нестерильний, або інфекційний, пов'язаний з присутністю збудника в організмі людини, розвивається за типом реакції гіперчутливості сповільненого типу. Провідне значення має клітинна ланка імунітету.

Профілактика специфічна здійснюється шляхом активної імунізації живою протитуберкульозною вакциною БЦЖ.

Лікування. Застосовуються протитуберкульозні хіміопрепарати і антибіотики. Всі препарати діляться на препарати 1 і 2 ряду. До першого ряду відносяться: ізоніазид, етамбутол, стрептоміцин, рифампіцин; до другого - циклосерін, канаміцин, віоміцин, тібон, етіонамід, ПАСК.

#### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити морфологію і культуральні особливості збудника туберкульозу. Знати, які збудники туберкульозу є патогенними для людини.
2. Вивчити шляхи передачі туберкульозу і його патогенез.
3. Знати, який матеріал для дослідження залежно від форми захворювання необхідно забирати.
4. Ознайомитися з методами лабораторної діагностики туберкульозу. Вивчити препарати для діагностики і лікування туберкульозу.
5. Грамотно оцінювати методи мікроскопії препаратів і результати інших методів діагностики.

#### **Уміти:**

1. Офарблювати готові зафіксовані мазки з мокроти хворого за методом Циля-Нильсена.
2. Оцінювати результати мікроскопії мазків.
3. Інтерпретувати результати проби Манту.

#### **Теоретичні питання:**

1. Таксономія збудника туберкульозу. Патогенні представники.
2. Культуральні особливості *Mycobacterium tuberculosis*.

3. Джерело інфекції. Шляхи зараження туберкульозом. Патогенез. Матеріали для дослідження.

4. Методи лабораторної діагностики туберкульозу.

5. Імунітет при туберкульозі і його особливості.

6. Специфічна профілактика і лікування туберкульозу.

#### **Практичні завдання, які виконуються на занятті.**

1. Мікроскопія готових препаратів з мокроти хворих на туберкульоз, забарвлених за Цилем-Нільсенем, із занесенням в протокол.

2. Фарбування за Цилем-Нільсенем готових зафіксованих препаратів з мокроти хворих на туберкульоз. Мікроскопія, аналіз результатів, зарисовка в протокол.

3. Вивчення біопрепаратів для діагностики і профілактики туберкульозу (туберкулін, вакцина БЦЖ) і препаратів для лікування.

#### **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.

#### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота полягає у вивченні методів мікробіологічної діагностики туберкульозу: методів виділення чистої культури *Mycobacterium tuberculosis*, бактеріоскопічного методу, ІФА, ПЛР, РІФ.

Практична робота зводиться до забарвлення готового зафіксованого препарату з мокроти хворого на туберкульоз, його перегляду під мікроскопом і зарисовкою в протокол. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і підведення підсумків самостійної роботи кожного студента.

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. Для виявлення палички туберкульозу в мокроті хворих, мазок фарбують за методом Циля-Нільсена, який дозволяє виявити кислотостійкі бактерії. Які структурні компоненти забезпечують кислотостійкість збудника туберкульозу?

А Капсула

В. Полісахариди

С. Ліпіди

Д. Білки

Е. Високомолекулярні кислоти

2. У хворих на туберкульоз формується інфекційний імунітет (нестерильний). Що означає термін інфекційний імунітет?

А. Несприйнятливість до інфекційних агентів взагалі

В. Пасивно набута несприйнятливність після введення антитіл (АТ) до антигену інфекційного агенту

С. Активно набута несприйнятливність після імунізації антигеном якого-небудь інфекційного агента

Д. Несприйнятливність, обумовлена наявністю інфекційного агента в організмі

Е. Несприйнятливність до вторинного зараження, обумовлена циркуляцією інфекційного агента в організмі

3. З метою діагностики туберкульозу пацієнтам ставлять туберкулінову пробу. Всі нижчевказані положення вірні стосовно туберкулінової проби, окрім:

А. Пробу вважають позитивною при появі папули, більшої за 10 см

В. Найбільше розповсюдження знайшло внутрішньошкірне введення туберкуліну (реакція Манту)

С. Повторне введення туберкуліну здатне викликати конверсію негативної проби в позитивну

Д. Проба Манту може бути негативною у хворих на туберкульоз на тлі алергії

Е. Для постановки проби Манту використовується ППД-Л (новий туберкулін Коха)

4. У доярки, що працює на фермі, де містяться хворі на туберкульоз корови, був виявлений туберкульоз. Які з перерахованих протитуберкульозних препаратів, що будуть використані для лікування хворої, не є засобами першого ряду:

А. Ізоніазид

В. Етамбутол

С. Стрептоміцин

Д. Рифампіцин

Е. Пеніцилін

5. Яка вакцина застосовується для профілактики туберкульозу?

А. АКДС

В. БЦЖ

С. АДП

Д. АД

Е. Холероген-анатоксин

#### **Алгоритм практичного заняття.**

1. Вивчити за таблицею морфологію *Mycobacterium tuberculosis*.

2. Вивчити техніку забарвлення *Mycobacterium tuberculosis* за методом Циля-Нільсена.

3. Мікроскопіювати готові зафіксовані препарати з мокроти хворого на туберкульоз, забарвлені за Цилем-Нільсенем, зарисувати в протокол.

4. Вивчити схему лабораторної діагностики туберкульозу.

5. Офарбувати за Цилем-Нільсенем готові зафіксовані мазки з мокроти хворого на туберкульоз, промікроскопіювати, замалювати в протокол.

6. Вивчити біологічні препарати для діагностики, профілактики і лікування туберкульозу.

7. Оформити протокол.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 31

**Тема:** Мікробіологічна діагностика анаеробної інфекції.  
**Мета:** Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики правця, ботулізму і газової гангрені.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 10.** Збудники анаеробних інфекцій.

**Актуальність теми.** Збудник ботулізму

Ботулізм - інфекційна хвороба, що характеризується інтоксикацією організму з переважним ураженням ЦНС, що виникає в результаті вживання харчових продуктів, які містять токсини *Clostridium botulinum*.

*Clostridium botulinum* була виділена в 1896 р. Е. Ван-Ерменгемом з організму загиблого і залишків ковбаси (лат. *botulus* - ковбаса), вживання якої привело до смерті.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Збудники ботулізму мають форму паличок довжиною 3-9 мкм, шириною 0,6-1 мкм із закругленими кінцями. Палички утворюють субтермінально розташовані спори і мають вид тенісної ракетки. Капсули не утворюють, перитрихи. Грампозитивні.

Культивування. *C. botulinum* - строгий анаероб. Оптимальна температура для зростання 25-35 °С, рН середовища 7,2-7,4. На кров'яному агарі утворює невеликі прозорі колонії, оточені зоною гемолізу. У високому стовпчику цукрового агару колонії мають вид пушинок або зерен чечевиці.

Ферментативна активність. *C. botulinum* володіє великим набором сахаролітичних і протеолітичних ферментів.

Антигенними властивостями, найбільш важливими для ідентифікації збудника, володіє екзотоксин *C. botulinum*. Розрізняють 7 сероварів збудника ботулізму - А, В, С, D, Е, F, G, з яких найбільш поширені А, В, Е.

Фактори патогенності. *C. botulinum* виділяє екзотоксин, найсильніший зі всіх біологічних отрут. Смертельна доза для людини дорівнює 0,3 мкг. Ботулінічний екзотоксин надає нейротоксичну, гемаглютинуючу дію. Його особливістю є висока стійкість до нагрівання (зберігається протягом 10-15 хв при 100 °С), кислої реакції, високих концентрацій куховарської солі, заморожування, травних ферментів.

Резистентність. Спори *C. botulinum* володіють дуже високою резистентністю до високих температур (витримують кип'ячення протягом 3-5 год).

Сприйнятливість тварин. До екзотоксину збудника ботулізму найбільш чутливі коні, морські свинки, білі миші і інші тварини.

Епідеміологія. Збудник ботулізму значно поширений в природі. Його виявляють в організмі тварин, риб, ракоподібних, звідки він потрапляє в ґрунт і воду. У ґрунті *C. botulinum* довгий час зберігається у вигляді спор і навіть може розмножуватися, що дозволяє віднести ботулізм до сапронозних інфекцій. З ґрунту ботулінічна паличка потрапляє в харчові продукти, де розмножується і виділяє екзотоксин. Шлях передачі інфекції - харчовий. Найчастіше чинником передачі інфекції є консерви (грибні, овочеві, м'ясні, рибні). Від людини до людини захворювання не передається.

Патогенез. Ботулінічний токсин потрапляє з їжею в травний тракт. Стійкий до дії травних ферментів, токсин всмоктується через стінку кишечника в кров і обумовлює тривалу токсинемію. Токсин зв'язується нервовими клітинами і блокує передачу імпульсів через нервово-м'язові синапси. В результаті розвивається параліч м'язів гортані, глотки, дихальних м'язів, що приводить до порушення ковтання і дихання, спостерігаються зміни з боку органів зору.

Клінічна картина. Інкубаційний період продовжується від 6-24 год до 2-6 днів. Чим коротше інкубаційний період, тим важче протікає хвороба. Звичайне захворювання починається гостро, але температура тіла при цьому залишається нормальною. Можливі різні варіанти ботулізму - з переважанням симптомів ураження травного тракту, розладу зору або дихальної функції. У першому випадку захворювання починається з появи сухості в роті, нудоти, блювоти, проносу. У другому - перші прояви хвороби пов'язані з порушеннями зору (хворий скаржить на «туман» перед очима і двоїння). В результаті паралічу м'язів гортані з'являється осиплість, а потім голос пропадає. Хворі можуть загинути від паралічу дихання. Захворювання може ускладнитися гострою пневмонією, токсичним міокардитом, сепсисом. Летальність при ботулізмі складає 15-30 %.

Імунітет. Постінфекційний імунітет не формується. Антитіла, які виробляються протягом захворювання, направлені проти певного серовара.

Мікробіологічна діагностика. Матеріалом для виявлення ботулотоксина служать сироватка крові, сеча, випорожнення, промивні води шлунку хворого, залишки їжі або підозрювані продукти (ковбаси, м'ясні, рибні, фруктові, овочеві консерви і ін.). Для виявлення ботулотоксина в сироватці крові хворого ставлять РПГА з еритроцитами, навантаженими моновалентними антитоксичними протиботулінічними сироватками типів А, В, Е. Як контроль беруть нормальну сироватку крові. Виявлення ботулотоксина в харчових продуктах і визначення токсигенності *C. botulinum* проводять в реакції нейтралізації токсину на білих мишах. Для визначення серотипа токсину реакцію ставлять з моновалентними сироватками типів А, В, Е. При нейтралізації токсину гомологічною антитоксичною сироваткою миші залишаються живими.

Лікування. Використовують антитоксичні протиботулінічні гетерологічні сироватки і гомологічні імуноглобуліни.

Профілактика. Основну роль в попередженні ботулізму грає дотримання певних правил приготування продуктів, перш за все домашніх консервів. Для специфічної профілактики ботулізму обмежено застосовують тетра- і трианатоксин, до складу яких входять ботулінічні анатоксини типів А, В, Е. Екстрена профілактика здійснюється за допомогою протиботулінічних сироваток.

Збудник правця. Правець (tetanus) - важка ранева інфекція, що викликається *Clostridium tetani* та характеризується ураженням нервової системи, нападами тонічних і клонічних судом. Збудник правця відкритий в 1884 р. Е. Николайером і С. Кітазато.

Морфологія і культивування. Правцева паличка - строгий анаероб, грампозитивна, її розміри 0,5-1,7x2-18 мкм; перитрих, утворює термінально розташовану круглу спору, продукує сильний екзотоксин при вирощуванні на рідких живильних середовищах. На щільних живильних середовищах формує прозорі або злегка сіруваті колонії з шорсткою поверхнею; не розщеплює вуглеводів, володіє слабкими протеолітичними властивостями.

Антигенна структура. За Н-антигеном *C. tetani* ділять на 10 сероварів. О-антиген є загальним для всіх представників виду. Всі серовари продукують однорідний токсин, що нейтралізується імунною сироваткою проти токсину будь-якого серовара.

Фактори патогенності. Основним чинником патогенності є екзотоксин. Правцевий токсин є білок з молекулярною масою близько 150 кД. Складається з тетанолізіна і тетаноспазміна, що мають гемолітичну і спастичну дію. До правцевого токсину чутливі людина, миші, морські свинки, кролики і інші тварини.

Резистентність і екологія. *C. tetani* поширена повсюдно. Будучи нормальним мешканцем кишечника людини і тварин, вона потрапляє в ґрунт, де у вигляді спор може зберігатися роками, десятиліттями. Правцева паличка вельми стійка до дезінфектантів. При кип'яченні спори гинуть через 50-60 хв.

Епідеміологія. Правець поширений повсюдно, викликаючи спорадичну захворюваність з високою летальністю. Зараження відбувається при проникненні збудника в організм через дефекти шкіри і слизистих оболонок при пораненнях (бойових, виробничих, побутових), опіках, відмороженнях, через операційні рани. При інфікуванні пуповини можливий розвиток правця у новонароджених. Хворий на правець не заразливий для тих, що оточують.

Патогенез. Головним патогенетичним чинником є правцевий токсин, який розповсюджується з місця розмноження збудника (у рані) по кровоносних і лімфатичних судинах, нервових стовбурах, викликаючи ураження нервової системи. Вражаються нервові закінчення синапсів, що секретують медіатори (ацетилхолін і інші речовини), порушується проведення імпульсів по нервових волокнах. При правці вражається не тільки нервова система, до патологічного процесу залучаються практично всі системи організму.

Клінічна картина. Інкубаційний період складає 6-14 днів. У хворих спостерігаються спазм жувальних м'язів, утруднене ковтання, напруга м'язів потилиці, спини (тулуб приймає дугоподібне положення - опістотонус), судоми м'язів всього тіла, підвищена чутливість до різних подразників. Захворювання протікає при підвищеній температурі тіла і ясній свідомості.

Імунітет. Після перенесеної хвороби імунітет не виробляється. Від матері, вакцинованої проти правця, новонародженим передається нетривалий пасивний антитоксичний імунітет.

Мікробіологічна діагностика. Матеріал для дослідження: шматочки тканини навколо передбачуваних вхідних воріт інфекції, гній, перев'язувальний матеріал, кетгут. При підозрі на правець у жінок після пологів або абортів - виділення з матки.

Бактеріологічне дослідження. Матеріал засівають в середовище Кітта-Тароцці і інкубують в анаеробних умовах при 37 °С протягом 3-4 діб, спостерігаючи придонне зростання бактерій. Потім роблять посіви на цукровий агар в чашки Петрі, в стовпчик цукрового живильного агару в пробірці. Посіви також інкубують в анаеробних умовах.

На поверхні кров'яного агару *S. tetani* утворює ніжні прозорі колонії, оточені малопомітною зоною гемолізу. Для отримання чистої культури підозрілі колонії пересівають в пробірці з середовищем Кітта-Тароцці і зберігають їх під шаром вазелінової олії або в ексикаторі, заповненому сумішшю інертних газів.

Біопроба - основний метод лабораторної діагностики правця. Проводиться для виявлення правцевого токсину в досліджуваному матеріалі. З цією метою матеріал розтирають в стерильній ступці з піском, заливають ізотонічним розчином хлориду натрію для екстрагування токсину і фільтрують через паперовий фільтр. Частину фільтрату змішують з антитоксичною сироваткою і внутрішньом'язово вводять білим мишам (контрольна група), піддослідним тваринам вводять один фільтрат. Через 1-2 доби у мишей з'являється ригідність м'язів хвоста і задніх кінцівок. В результаті різкого скорочення хвостових м'язів хвіст піднімається у вигляді дуги. Потім піддослідні тварини гинуть. Для визначення токсигенності виділе-

ної культури білим мишам вводять надосадову рідину, отриману при центрифугуванні цієї культури, вирощеної на рідкому живильному середовищі.

Лікування. Застосовують протиправцеву антитоксичну сироватку або протиправцевий імуноглобулін людини.

Профілактика. При обширних травмах необхідно звернутися до лікаря. Проводять хірургічну обробку рани. Надійним способом захисту від правця є специфічна профілактика, яка полягає в проведенні планової профілактичної екстреної імунізації. Екстрена активна імунізація здійснюється у прищеплених дітей і дорослих при травмах, опіках і відмороженнях, укусах тварин, позалікарняних абортів введенням 0,5 мл правцевого анатоксина; неприщепленим вводять 1 мл правцевого анатоксина і 250 МО людського імуноглобуліну. За відсутності останнього вводять після попередньої внутрішньошкірної проби протиправцеву гетерологічну сироватку в дозі 3000 МО.

Для створення штучного активного імунітету в плановому порядку застосовують адсорбований правцевий анатоксин у складі вакцин АКДС і АДС або секстанатоксина.

Збудники анаеробної інфекції. Анаеробна інфекція - інфекційне захворювання, що викликається анаеробами, характеризується загальною інтоксикацією, некрозом тканин, їх розпадом. Зазвичай під анаеробною інфекцією розуміють раневу інфекцію, проте анаероби можуть вражати будь-які органи і тканини.

Анаеробна інфекція викликається облігатними анаеробами, що розділяються на 2 групи: бактерії, утворюючі спори (клостридії), і бактерії, не утворюючі спори, або так звані неклостридіальні анаероби. Ранова інфекція, викликана бактеріями роду *Clostridium* (*C. perfringens*, *C. novyi*, *C. gamosum* і ін.), називається газовою гангrenoю.

Морфологія і культивування. Збудники газової гангрені - паличкоподібні грампозитивні бактерії (відділ Firmicutes), утворюючі овальні спори, що в діаметрі перевищують поперечник вегетативної частини. У уражених тканинах клостридії газової гангрені формують капсулу. Культивуються на рідких і щільних живильних середовищах в анаеробних умовах.

Фактори патогенності. Продукують екзотоксини, що специфічні для кожного виду, впливають на ЦНС; виділяють ферменти (колагеназу, гіалуронідазу, дезоксирибонуклеазу), що руйнують сполучну тканину, а також гемолізін, що руйнує еритроцити.

Резистентність і екологія. Вегетативні форми клостридії чутливі до кисню, сонячного світла, високої температури, кислот, дезінфікуючих засобів. Спори в протилежність вегетативним формам стійкі до високих температур, кислот і інших фізичних і хімічних факторів.

Збудники газової гангрени, будучи нормальними мешканцями кишечника тварин і людини, з фекаліями потрапляють у ґрунт, де спори тривалий час зберігаються. У деяких ґрунтах клостридії можуть розмножуватися.

Сприйнятливості тварин. До зараження збудниками газової гангрени чутливі кролики, морські свинки, миші.

Епідеміологія. Газова гангрена у зв'язку зі значною поширеністю збудника зустрічається досить часто, особливо при масових пораненнях і травмах (війни, катастрофи) і несвоєчасній хірургічній обробці ран.

Патогенез і клінічна картина. Газова гангрена розвивається в результаті попадання збудників в рану, особливо за наявності в рані некротизованих тканин, зниженні резистентності організму. Утворювані вегетативними формами клостридій токсини і ферменти приводять до пошкодження здорових тканин і важкої загальної інтоксикації організму. Інкубаційний період короткий - 1-3 дні, клінічна картина різноманітна і зводиться до набряку, газоутворення в рані, нагноєння з інтоксикацією. Перебіг хвороби посилюють супутні мікроорганізми (стафілококи, протей, кишкова паличка, бактероїди і ін.).

Імунітет. Перенесена інфекція не створює імунітету. Провідна роль в захисті від токсину належить антитоксичному імунітету.

Мікробіологічна діагностика.

Бактеріоскопічне дослідження. Проводиться шляхом мікроскопії мазків, приготованих з набрякової рідини або некротизованої тканини. Наявність в препаратах крупних грампозитивних паличок, частина з яких утворює капсулу, дозволяє поставити попередній діагноз.

Бактеріологічне дослідження.

Матеріал вносять до декількох пробірок з середовищем Кітта-Тароцці, з середовищем Вільсона-Блера і молоком. Частину пробірок прогрівають при 80 °С протягом 30 хв для знищення неспороутворюючих бактерій. Посіви інкубують в звичайному термостаті при 37 °С. У молоці вже через 3-4 години після посіву утворюється губкоподібний згусток, що містить бульбашки газу і прозору рідину, що відокремилася. На наступну добу на середовищі Кітта-Тароцці спостерігається помутніння і газоутворення, а на середовищі Вільсона-Блера декілька пізніше з'являються чорні колонії в глибині агарового стовпчика. Зі всіх посівів роблять мазки, офарблюють їх за Грамом і мікроскопують.

При позитивному результаті виявляють крупні грампозитивні палички. Для отримання чистої культури роблять пересівання на цукрово-кров'яний агар в чашки Петрі, які інкубують у строго анаеробних умовах при 37 °С протягом 3-4 днів. Колонії, що виростили, пересівають в пробірки

з середовищем Кітта-Тароці, потім проводять ідентифікацію на підставі диференціальних ознак.

Для визначенні токсигенності досліджувану культуру, вирощену на середовищі Кітта-Тароці, центрифугують і надосадову рідину вводять морській свинці, яка при позитивному результаті гине.

Для швидкого виявлення токсину *S. perfringens* в раневих виділеннях визначають його лецитіназну активність. Позитивна реакція на лецитіназу виявляється помутнінням рідини в пробірці. При негативній реакції, що характеризується нейтралізацією ферменту відповідною антисироваткою, рідина залишається прозорою.

Унаслідок того, що токсини різних видів клостридій розрізняються за своїми антигенними властивостями, їх серологічну ідентифікацію проводять в реакції нейтралізації на лабораторних тваринах. З цією метою суміш досліджуваного токсину з антитоксичною сироваткою (*S. perfringens* або *S. novyi*) вводять підшкірно морській свинці. У разі нейтралізації токсину тварина залишається живою; при негативній реакції морська свинка гине через 30 хв-4 год після ін'єкції.

Лікування хірургічне: посічення всіх тканин, що омертвіли. Після операції призначають антибіотики широкого спектру дії, протиангренозну антитоксичну сироватку.

Профілактика. Правильна хірургічна обробка ран, дотримання асептики і антисептики при операціях.

Для активної імунізації застосовують анатоксини проти газової гангрену у складі секстанатоксина; щеплення проводять за спеціальними показаннями (військовослужбовці, землекопи і ін.).

Неспороутворюючі анаероби. Неспороутворюючі анаероби (неклостридальні) - це грамнегативні (бактероїди, фузобактерії, вейлонели) і грампозитивні (актиноміцети, пептококи, пептострептококи) паличкоподібні і кокоподібні бактерії з різноманітними біологічними властивостями. Складають обширну групу облигатних анаеробів, що включає різні таксономічні категорії.

Збудники швидко гинуть в аеробних умовах. На дію фізичних і хімічних факторів реагують так само, як і не утворюючі спору бактерії. Чутливість до антибіотиків індивідуальна. Грамнегативні анаероби (наприклад, найбільш типовий представник *Bacteroides fragilis*) нечутливі до аміноглікозидів (гентаміцину, канаміцину), чутливі до метронідазолу (трихополу), кліндаміцину і деяких інших антибіотиків широкого спектру дії.

Неспороутворюючі анаероби викликають найрізноманітніші гнійно-запальні процеси: у щелепно-лицьовій області, легенях, печінці, вражають сечостатево систему, опорно-руховий апарат, викликають апендицит, пе-

ритоніт, сепсис. Звичайно це змішані інфекції, що викликаються асоціаціями анаеробів з аеробами.

Для мікробіологічної діагностики використовують гній або уражену тканину, кров; проводять бактеріоскопію і бактеріологічне дослідження; для виявлення анаеробів застосовують газорідинну хроматографію, ІФА і ін. Обов'язкова антибіотикограма.

Лікування часто хірургічне у поєднанні з антибактеріальними препаратами: метронідазолом, кліндамицином, цефалоспориновими антибіотиками. Можуть застосовуватися левоміцетин, еритроміцин.

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з еволюцією клостридій, класифікацією.
2. Пояснювати токсигенність клостридій.
3. Навчитися трактувати властивості клостридій анаеробної інфекції ран, правця, ботулізму.
4. Ознайомитися з особливостями патогенезу.
5. Визначити методи мікробіологічної діагностики газової раневої інфекції, правця, ботулізму.
6. Ознайомитися зі специфічною терапією і профілактикою анаеробних інфекцій.

#### **Уміти:**

1. Здійснити посів на живильні середовища досліджуваного матеріалу.
2. Приготувати мазки і офарбувати за Грамом.
3. Провести мікроскопію препаратів за допомогою імерсійного мікроскопа.
4. Аналізувати морфологічні, культуральні, ферментативні ознаки анаеробних бактерій.

#### **Теоретичні питання:**

1. Характеристика збудників анаеробної інфекції. Біологічні властивості. Класифікація анаеробів.
2. Властивості клостридій.
3. Резистентність до факторів навколишнього середовища.
4. Генетичний контроль токсиноутворення.
5. Епідеміологія, патогенез і клінічні особливості анаеробної інфекції.
6. Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій, правця, ботулізму.
7. Специфічна терапія, профілактика анаеробних інфекцій.

#### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів з чистих культур анаеробних бактерій, зарисовка їх в альбом.

2. Вивчення власного висіву ґрунту на середовище Кітта-Тароцці і молоко під олією (опис характеру зростання, приготування мазків і фарбування їх за Грамом).

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

4. Розбір схеми лабораторної діагностики правця, ботулізму і раневої інфекції.

5. 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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота:

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів;

2. Студенти замальовують мікропрепарати в протокол і дають необхідні пояснення;

3. Студенти проводять розбір і запис схем лабораторної діагностики газової раневої інфекції, правця і ботулізму.

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

### **Цільові навчальні завдання:**

1. Проведені бактеріологічні дослідження гною з післяопераційної рани дозволили виділити збудників, які дали зростання на цукрово-кров'яному агарі через 7-10 днів в анаеробних умовах: колонії S-форми, блискучі, чорного кольору з неприємним запахом. Мікроскопія забарвлених мазків з цих колоній показала наявність в них грамнегативних пали-

чок, тонких з вираженим поліморфізмом. Які мікроорганізми могли викликати цей гнійний процес в післяопераційній рані?

- A. Бактероїди                      В. Клостридії                      С. Фузобактерії  
D. Вейлонели                      Е. Кишкова паличка

2. При обстеженні хворого лікар-стоматолог виявив напругу жувальних м'язів і обмежене відкриття рота. Для якого інфекційного захворювання характерні такі симптоми?

- A. Грип                                  В. Правець                                  С. Холера  
D. Лептоспіроз                      Е. Дифтерія

3. Після вживання в їжу бомбажних консервів у хворого з'явилися ознаки ботулізму. За допомогою якої з перерахованих реакцій можна виявити в цих консервах ботуліновий екзотоксин?

- A. РА                      В. РЗК                      С. РГА                      D. РН                      Е. РНГА

4. В бактеріологічній лабораторії досліджувалася в'ялена риба домашнього приготування, що стала причиною важкого харчового отруєння. При мікроскопії виділеної на середовищі Кітта-Тароцці культури виявлені мікроорганізми, що нагадують тенісну ракетку. Розвиток якого захворювання найімовірніше викличуть виділені мікроорганізми?

- A. Черевного тифу                      В. Дизентерії                      С. Холери  
D. Ботулізму                              Е. Сальмонельозу

5. Після споживання овочевих консервів домашнього приготування в сім'ї відмічено два випадки отруєння, що протікає з ураженням ЦНС (двоїння в очах, утруднення ковтання, афонія і ін.) Вкажіть найбільш вірогідного збудника цієї харчової токсикоінфекції.

- A. E. coli                                  В. S. enteritidis                                  С. S. aureus  
D. C. botulinum                              Е. C. perfringens

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
2. Вивчення методів культивування анаеробів. Оцінка висіву ґрунту на середовище Кітта-Тароцці і молоко під олією.
3. Розбір і запис схеми лабораторної діагностики правця, газової ракової інфекції і ботулізму в протокол.
4. Оформлення протоколу.
5. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 32

**Тема:** Мікробіологічна діагностика чуми і туляремії.

**Мета:** Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики чуми і туляремії.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 11.** Збудники зоонозних інфекцій.

**Актуальність теми.** Збудник чуми. Чума (від лат. *pestis*) - висококонтагіозна інфекційна хвороба, що викликається *Yersinia pestis* та характеризується важкою інтоксикацією, високою лихоманкою, ураженням лімфатичної системи, септицемією. Збудник чуми відкритий в 1894 р. А. Йерсеном і С. Кітасаго.

Таксономія. *Y. pestis* відноситься до відділу *Gracilicutes*, сімейства *Enterobacteriaceae*, роду *Yersinia*.

Морфологія і тинкторіальні властивості. *Y. pestis* - поліморфна дрібна овоїдна паличка, джгутиків не має, спору не утворює, може утворювати капсулу, грамнегативна, з біполярним фарбуванням у мазках, узятих з патологічного матеріалу.

Культивування. Збудник чуми - факультативний анаероб, психрофіл: оптимум зростання при 28 °С. На щільних середовищах може зростати у вигляді колоній R- і S-форми; R-форми володіють високою вірулентністю, S-форми менш вірулентні.

Ферментативна активність. Збудник володіє біохімічною активністю, ферментує вуглеводи до вуглекислого газу, синтезує фібринолізин і коагулазу. Залежно від ферментації гліцерину виділяють «+» і «-» варіанти.

Антигенна структура і фактори патогенності. *Y. pestis* має термолабільний капсульний і термостабільний соматичний антигени; основні з них F<sub>1</sub>-, V- і W-антигени. Має загальні антигени з іншими ієрсиніями, ешеріхіями, сальмонелами, шигелами.

Бактерії чуми відрізняються високою вірулентністю, проникають навіть через непошкоджену шкіру, утворюють особливий токсин, високоотруйний для мишей, бактеріоцини - пестицини. Більшість факторів вірулентності (V-, W-антигени, мишачий токсин, F1 коагулаза і ін.) контролюються генами плазмід.

Резистентність. Сонячне і ультрафіолетове світло, висушування, висока температура і дезинфікуючі засоби (фенол, хлорамін і ін.) викликають швидку загибель *Y. pestis*. Добре переносять низькі температури, заморо-

жування і відтавання; у патологічному матеріалі переживають до 10 діб, при 0 °С зберігаються до 6 міс.

Сприйнятливість тварин. До збудника чуми чутливі гризуни (бабаки, піщанки, ховрахи, щури, домові миші). Сприйнятливі верблюди, кішки, лисиці, їжаки і ін. Серед лабораторних тварин найбільш сприйнятливі білі миші, морські свинки, кролики, мавпи.

Епідеміологія. Чума - природно-осередкове захворювання, відноситься до особливо небезпечних інфекцій. Епідемії чуми в середні віки забирали десятки мільйонів життів. Існують вогнища чуми і в даний час, особливо в країнах Південно-Східної Азії. Зустрічаються одиничні випадки захворювання в Середній Азії. Основне джерело *Y. pestis* – різні види гризунів. Основний механізм передачі інфекції – трансмісивний. Людина заражається в результаті укусу інфікованої блохи, а також контактом (при заборі хворої тварини, знятті шкіри, обробленні туші) і харчовим (вживання недостатньо термічно обробленого м'яса хворої тварини) шляхами. Після зараження джерелом чуми є хвора людина. Особливо високою контагіозністю відрізняються хворі з легеневою формою чуми.

Патогенез. Збудник, проникаючи через шкіру і слизисті оболонки, розповсюджується по лімфатичних судинах, розмножується, викликає інтоксикацію, ураження лімфатичних вузлів, легенів і інших органів.

Розрізняють бубонну, легеневу і первинно-септичну форми. При бубонній формі вражаються лімфатичні вузли (бубон - збільшений лімфатичний вузол), звідки збудники можуть розповсюджуватися по всьому організму, зокрема потрапляти в легені, викликаючи вторинну пневмонію. При повітряно-краплинному шляху передачі розвивається первинна легенева форма чуми. При масивному зараженні може бути первинно-септична форма. Незалежно від форми чуми вражаються всі системи і органи: серцево-судинна, нирки, печінка, селезінка, кістковий мозок, залози внутрішньої секреції і ін.

Клінічна картина. Інкубаційний період зазвичай продовжується 2-3 дні. Захворювання виявляється загальними симптомами (головний біль, підвищення температури тіла, озноб і ін.), а також симптомами, характерними для бубонної або легеневої форми. Імунітет різної тривалості і напруженості. Описані випадки повторних захворювань.

Мікробіологічна діагностика. Всі дослідження проводяться в спеціальних лабораторіях, в захисних костюмах. Матеріалом для дослідження можуть служити вміст бубону, мокрота, кров, кал, шматочки органів померлих, трупи тварин і ін. При бактеріоскопії мазків виявляються грамнегативні овоїдні біполярно забарвлені палички, що дозволяють поставити попередній діагноз. Остаточний діагноз ставиться на підставі виділення і ідентифікації культури і загибелі заражених морських свинок і білих ми-

шей після введення досліджуваного матеріалу. Використовують також прискорений метод для визначення антигена в досліджуваному матеріалі (РІФ) і серологічний метод (ІФА).

Лікування. З антимікробних препаратів застосовують тетрациклін, левоміцетин, рифампіцин і ін.

Профілактика. Застосовують живу вакцину з атенуйованого штаму EV.

Збудник туляремії. Туляремія - зоонозна інфекційна хвороба з природною осередковістю, що викликається *Francisella tularensis* та характеризується лихоманкою і ураженням лімфатичних вузлів.

Морфологія і культивування. Дрібні грамнегативні бактерії, факультативні анаероби, культивується на середовищах з додаванням жовтка або цистину. При культивуванні відбуваються атенуація бактерій і перетворення їх з вірулентної S-форми в авірулентну R-форму.

Сприйнятливість тварин. Збудник туляремії патогенний для ссавців багатьох видів, особливо гризунів і зайців.

Епідеміологія. Туляремія поширена на багатьох континентах. Джерелом інфекції є всі види гризунів, частіше водяна полівка, ондатра, домовиша, заєць і ін. Передача збудника серед тварин відбувається частіше через кровососальних членистоногих: кліщів, комарів, рідше бліх. Шляхи зараження людини - трансмісивний (при укусах інфікованими кліщами, комарами, гедзями), контактнo-побутовий (через пошкоджену шкіру або слизисту оболонку очей), харчовий (при вживанні зараженої води або харчових продуктів), повітря (при вдиханні з повітрям пилу або крапельок, забруднених виділеннями гризунів). Від людини до людини збудник не передається.

Клінічна картина. Інкубаційний період складає 3-7 днів. Хвороба починається раптово, температура тіла підвищується до 38-40 °С, симптоми залежать в значній мірі від шляху передачі інфекції і форми хвороби. Розрізняють бубонну, окобубонну, ангінозно-бубонну і септичну форми. Летальність до 5 %.

Мікробіологічна діагностика. Заснована на серологічних, біологічних і бактеріологічних дослідженнях матеріалів, узятих від хворого (змиви, кров, пунктат бубонів). Застосовують РА з туляреміїним діагностикомом, РНГА з еритроцитарним діагностикомом, а також РЗК, РІФ, ІФА. Бактеріологічні дослідження матеріалу, взятого від хворого, зазвичай безуспішні. Виділяють і ідентифікують збудника після зараження досліджуваним матеріалом морських свинок або білих мишей. Проводять шкірні алергічні проби з тулярином – туляреміїним антигеном. При позитивній реакції на місці ін'єкції через 12-24 год з'являються червоність і набряклість.

Лікування. Застосовують аміноглікозиди (стрептоміцин, канаміцин і ін.), тетрациклін, левоміцетин, еритроміцин.

Профілактика. Профілактичні заходи зводяться до боротьби з гризунами, захисту вододжерел, санітарно-просвітницькій роботі. Для створення активного імунітету за епідемічними показаннями застосовують ефективну живу туляремійну вакцину, отриману зі штаму Z 15.

**Конкретні цілі:**

1. Вивчити морфологію, культуральні, біохімічні і антигенні властивості збудників чуми і туляремії.
2. Вивчити джерела, шляхи передачі і деякі клінічні прояви чуми і туляремії.
3. Ознайомитися з методами лабораторної діагностики чуми і туляремії.
4. Визначити значення токсину в розвитку чуми і туляремії.
5. Пояснити поняття “анатоксин” і “антитоксин”.
6. Ознайомитися з методами і засобами профілактики і лікування чуми і туляремії.

**Уміти:**

1. Здійснити посів на живильні середовища досліджуваного матеріалу.
2. Приготувати мазки і офарбувати їх.

**Теоретичні питання:**

1. Характеристика збудників чуми і туляремії. Біологічні властивості.
2. Епідеміологія, патогенез і клінічні особливості чуми і туляремії.
3. Лабораторна діагностика.
4. Принципи лікування і профілактики чуми і туляремії.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Вивчення морфології збудників чуми і туляремії в мікропрепаратах. Вивчення культуральних і біохімічних властивостей чуми і туляремії.
3. Мікроскопія демонстраційних препаратів з чистих культур збудників чуми і туляремії.
4. Зарисовка демонстраційних препаратів і схеми мікробіологічної діагностики чуми і туляремії в протокол заняття. Оформлення протоколу.

**Література:**

1. 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.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті:**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з мікроскопії і зарисовки демонстраційних препаратів, вивчення біологічних препаратів для діагнос-

тики, специфічної терапії і профілактики чуми і туляремії, вивчення схеми постановки і обліку реакції аглютинації з сироваткою крові хворого на туляремію, постановки кров'яно-краплинної реакції на склі, вивчення схем лабораторної діагностики чуми і туляремії.

**Цільові навчальні завдання:**

1. У хворого в мокроті виявлені дрібні грамнегативні овоїди, кінці яких забарвлені інтенсивно. Які мікроорганізми з приведених мають такі морфологічні і тинкторіальні властивості?

- A. *V.melitensis*.      B. *C.diphtheriae*.      C. *S.typhi*.  
D. *M.tuberculosis*.      E. *Y.pestis*.

2. У хворого зі скаргами на лихоманку лікар виявив збільшений з чіткими контурами лімфатичний вузол (бубон). Яка з перерахованих серологічних реакцій може дати підставу для постановки діагнозу “туляремія”?

- A. Реакція аглютинації з туляріном.      B. РГГА.  
C. Реакція аглютинації з тулярійним діагностикумом.  
D. Реакція Відаля.      E. Всі відповіді не вірні

3. Під час мікроскопії мокроти хворого з попереднім діагнозом «гостра пневмонія» виявлені хаотично розташовані мікроорганізми овоїдної форми завдовжки до 2 мкм, інтенсивно забарвлені по полюсах. Який найбільш вірогідний діагноз можна встановити на підставі отриманих даних?

- A. Легенева форма чуми.      B. Стрептококова пневмонія.  
C. Стафілококова пневмонія.      D. Клебсієльозна пневмонія.  
E. Дифтерія.

4. В одному з гірських селищ спостерігалася масова загибель гризунів. Одночасно хворіли жителі цієї місцевості. Захворювання супроводжувалася швидким підвищенням температури тіла до 40°C, вираженою інтоксикацією, збільшенням пахових лімфатичних вузлів. У препаратах-мазках з трупного матеріалу виявили грамнегативні палички овоїдної форми з біполярним фарбуванням. Які мікроорганізми є збудниками цього інфекційного захворювання?

- A. Стафілокок      B. Паличка чуми      E. Клостридії  
C. Збудник туляремії      D. Збудник сибірської виразки

**Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення біологічних властивостей збудників чуми і туляремії.
2. Розбір схеми патогенетичних і клінічних проявів цих захворювань.
3. Вивчення методів лабораторної діагностики збудників чуми і туляремії. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів з чистих культур.
4. Зарисовка демонстраційних препаратів і схеми лабораторної діагностики чуми і туляремії в протокол.
5. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 33

**Тема:** Мікробіологічна діагностика бруцельозу і сибірської виразки.

**Мета:** Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики бруцельозу і сибірської виразки.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 11.** Збудники зоонозних інфекцій.

**Актуальність теми.** Збудники бруцельозу.

Бруцельоз - інфекційна хвороба, що викликається бактеріями роду *Brucella* та характеризується тривалою лихоманкою, ураженням опорно-рухового апарату, нервової, серцево-судинної і сечостатевої систем. Назва роду пов'язана з ім'ям Д.Брюса, що відкрив в 1886 р. збудника бруцельозу.

Таксономія. Основні збудники бруцельозу - *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, відносяться до відділу *Gracilicutes*, роду *Brucella*.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Бруцели - дрібні грамнегативні палички овоїдної форми довжиною 0,6-1,5 мкм, шириною 0,5-0,7 мкм. Не утворюють спор, не мають джгутиків і капсули.

Культивування. Бруцели - облигатні аероби; *B. abortus* для зростання має потребу у присутності 5-10 % вуглекислого газу. Оптимальна температура для зростання 37 °С, оптимальне значення рН середовища 6,8-7,2. Бруцели вимогливі до живильних середовищ і ростуть на спеціальних середовищах (печінкових і ін.). Їх особливістю є повільне (протягом 2-3 тиж) зростання.

Ферментативна активність. Біохімічна активність бруцел порівняно невисока.

Антигенна структура. Бруцели мають 2 різновиди О-антигена - А і М. Ці антигени видоспецифічні; у *B. melitensis* в більшій кількості міститься М-антиген, у *B. abortus* і *B. suis* переважає А-антиген.

Фактори патогенності. Бруцели утворюють ендотоксин, що володіє високою інвазивною здатністю, а також продукують один з ферментів агресії - гіалуронідазу. Їх адгезивні властивості пов'язані з білками зовнішньої мембрани.

Резистентність. Бруцели дуже швидко гинуть при кип'яченні, дії дезінфікуючих засобів, але досить стійкі до низьких температур (у замороженому м'ясі зберігаються до 5 міс, у молочних продуктах до 1,5 міс).

Сприйнятливість тварин. До бруцел дуже чутливі морські свинки, кролики, білі миші.

Епідеміологія. Бруцельоз - зоонозна інфекція; джерелом інфекції є крупна і дрібна рогата худоба, свині, рідше олені, коні, собаки, кішки і інші тварини. В Україні основне джерело бруцельозу - вівці, що виділяють *B. melitensis*, але можуть бути і корови (*B. abortus*). Хворі люди не є джерелом інфекції. Зараження бруцельозом відбувається при вживанні молочних продуктів, м'яса. Нерідко захворюють люди, що мають контакти з хворими тваринами, наприклад доярки, пастухи. Бруцельоз зустрічається в різних країнах. Спостерігаються як спорадичні випадки, так і спалахи захворювання в основному в тваринницьких районах.

Патогенез. Бруцели проникають в організм через слизисті оболонки і шкіру, потрапляють в регіонарні лімфатичні вузли, потім в кров. Током крові бактерії розносяться по всьому організму і потрапляють в органи ретикулоендотеліальної системи (печінку, селезінку, кістковий мозок). Там вони можуть тривалий час зберігатися і знов потрапляти в кров. При загибелі бруцел звільняється ендотоксин, що викликає інтоксикацію організму. У патогенезі захворювань грає також роль сенсibiliзація організму бруцелами.

Клінічна картина. Інкубаційний період складає від 1 до 3 тиж. Симптоматика захворювання, що розвивається, дуже різноманітна. Бруцельоз характеризується тривалою лихоманкою, ознобами, пітливістю, болями в суглобах в результаті їх ураження. Нерідко виникають радикуліти і міозити. У патологічний процес залучаються також серцево-судинна, сечостатева і інші системи. Хвороба має затяжний характер.

Імунітет. Після перенесеного захворювання формується неміцний і нетривалий імунітет, він зберігається протягом 6-9 міс. Нерідко люди, що перенесли бруцельоз, знов захворюють на цю інфекцію.

Мікробіологічна діагностика. Як матеріал для дослідження використовують кров, сечу, кістковий мозок. Основний метод діагностики - бактеріологічний, такий, що дозволяє визначити не тільки рід збудника, що важливе для постановки діагнозу, але і вид, встановлення якого проводять для виявлення джерела інфекції. Застосовують також серологічний метод (реакції аглютинації Райта і Хеддльсона, РГГА, РЗК і ін.), шкірні алергічні проби (проба Бюрне з бруцеліном).

Лікування. Основне лікування - антибіотикотерапія. Дуже рідко використовують для вакцинотерапії убиту вакцину.

Профілактика. Основна роль в профілактиці бруцельозу належить санітарно-гігієнічним заходам (зокрема пастеризації молока). Крім того, застосовують за епідемічними показаннями живу бруцельозну вакцину.

Збудник сибірської виразки. Сибірська виразка (*anthrax*) - зоонозна інфекційна хвороба, що викликається *Bacillus anthracis* та характеризується важкою інтоксикацією, ураженням шкіри і лімфатичної системи.

Збудник сибірської виразки *V. anthracis* виділений Р. Кохом в 1876 р.

Таксономія, морфологія, культивування. Збудник відноситься до відділу Firmicutes. Це велика, грампозитивна, нерухома паличкоподібна бактерія довжиною 6-10 мкм, має центральну спору; у організмі людини і тварини, а також на спеціальних живильних середовищах утворює капсулу.

Бацили сибірської виразки добре ростуть на основних живильних середовищах; на МПА зростають шорсткі колонії R-форми, края яких під малим збільшенням мікроскопа порівнюють з головою медузи або гривою лева.

Антигенна структура і фактори патогенності. Збудник має капсульний протеїновий і соматичний полісахаридний родовий антигени; продукує екзотоксин, що є білковим комплексом з декількох компонентів (летального, такого, що викликає набряк, і протективного).

Резистентність. У живому організмі збудник існує у вегетативній формі, в навколишньому середовищі утворює стійку спору. Вегетативні форми малостійкі: гинуть при 60 °С протягом 15 хв, при кип'яченні - через хвилину. Спори високорезистентні: сухий жар вбиває їх при температурі 140 °С протягом 2-3 год; у автоклаві при температурі 121 °С вони гинуть через 15-20 хв. Спори десятиліттями зберігаються в ґрунті.

Епідеміологія. Сибірська виразка поширена повсюдно. Сприйнятливість людей є загальною, але хвора людина незаразлива для тих, що оточують: як і при інших зоонозах, вона представляється біологічним кінцем для цієї інфекції. Рівень захворюваності серед людей залежить від розповсюдження епідемій серед тварин (епізоотій), особливо серед домашніх тварин. Джерело інфекції - хворі тварини. Тривале збереження збудника в ґрунті служить причиною ендемічних захворювань сибірською виразкою серед тварин. Шляхи передачі інфекції різні: контактно-побутовий (при догляді за тваринами, зняті шкури, приготуванні виробів з шкіри і шерсті хворих тварин), аерогенний (при вдиханні пилу, що містить мікроби), харчовий (вживання недостатньо термічно обробленого м'яса хворих тварин) і трансмісивний (при кровосанні гедзями, мухами).

Патогенез. Вхідними воротами для збудника є шкіра, рідше слизисті оболонки дихальних шляхів, травного тракту. Основним патогенетичним чинником служить екзотоксин, компоненти якого викликають набряк, некроз тканин і інші пошкодження.

Клінічна картина. Розрізняють шкіряну, легеневу, кишкову форми сибірської виразки, які можуть ускладнюватися сепсисом. Інкубаційний період в середньому рівний 2-3 дням. При шкірній формі на місці впровадження збудника розвивається сибіреязвенний карбункул - вогнище геморагічно-некротичного запалення глибоких шарів шкіри з утворенням бурчор-чорної кірки (anthrax - вугілля). При кишковій і легеневій формі розви-

ваються інтоксикація, геморагічні ураження кишечника і легенів. Летальність висока.

Імунітет. В результаті перенесеного захворювання формується стійкий імунітет. Проте можливі рецидиви.

Мікробіологічна діагностика. Матеріалом для дослідження служать вміст карбункула, мокрота, випорожнення, кров. Проводять бактеріоскопію мазків, роблять посіви на живильні середовища, заражають лабораторних тварин (біопроба). Для виявлення антигена в досліджуваному матеріалі використовують РІФ і реакцію преципітації Асколі з діагностичною преципітуючою сибіреязвенною сироваткою. Застосовують алергічну внутрішньошкірну пробу з антраксином - алергеном з сибіреязвенних бацил.

Лікування. Призначають антибіотики: пеніциліни, тетрациклін, левоміцетин, рифампіцин.

Профілактика. Неспецифічна профілактика ґрунтується на комплексі ветеринарно-санітарних заходів: виявляють і ліквідовують осередки інфекції. Специфічна профілактика полягає в застосуванні живої сибіреязвенної вакцини СТІ, запропонованою Н. Н. Гінсбургом і А. Л. Тамаріним. Вакцина є споровою культурою безкапсульного варіанту сибіреязвенних бацил. Вакцина застосовується за епідемічними показаннями; щеплять працівників тваринництва в населених пунктах, несприятливих по сибірській виразці.

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією виду *Bacillus anthracis*.
2. Описувати патогенез сибірської виразки.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики сибірської виразки.
4. Трактувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.
5. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії сибірської виразки.

#### **Уміти:**

1. Проводити диференціацію *Bacillus anthracis*.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих на сибірську виразку.
3. Виділити чисту культуру *Bacillus anthracis*.
4. Трактувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.

#### **Теоретичні питання:**

Збудник сибірської виразки (*Bacillus anthracis*):

1. Властивості. Резистентність.
2. Патогенність для людини і тварин. Фактори патогенності, токсини.

3. Патогенез захворювання у людей, імунітет.
4. Мікробіологічна діагностика.
5. Специфічна профілактика і лікування сибірської виразки.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
2. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Розбір схеми лабораторної діагностики сибірської виразки.
4. Оформлення протоколу.

**Література:**

1. 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.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики сибірської виразки. Студенти вивчають схему виділення чистої культури *Bacillus anthracis* і мікроскопують готові зафіксовані мазки з чистої культури *Bacillus anthracis*. Далі студенти знайомляться з правилами забору матеріалу від хворих на сибірську виразку для проведення прямої мікроскопії досліджуваного матеріалу. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення.

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

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. В лабораторії при експертизі шкір тварин була використана реакція по Асколі. Через декілька хвилин після з'єднання імунної сироватки і екстракту шкіри було відмічено утворення білуватого кільця. Про що свідчить даний результат?

- A. Наявність термостабільного антигена сальмонел.
- B. Наявність збудника бруцельозу.
- C. Наявність термостабільного антигена сибірської виразки.
- D. Наявність токсину анаеробної інфекції.
- E. Наявність збудника сибірської виразки.

2. Серед працівників тваринницької ферми з'явилися захворювання бруцельозом. Необхідно було провести специфічну профілактику серед

працівників цього колективу. Який з перерахованих препаратів використовували з метою профілактики бруцельозу?

- A. Живу бруцельозну вакцину.
- B. Специфічну імунну сироватку.
- C. Бруцельозний бактеріофаг.
- D. Убиту бруцельозну вакцину.
- E. Людський гама-глобулін.

3. В інфекційне відділення поступив хворий зі скаргами на високу температуру, наявність на поверхні правого передпліччя міхурів, які наповнені серозною рідиною, з якої на 3 добу виділені бацили сибірської виразки. Який з приведених методів діагностики дає підставу для подібного висновку?

- A. Бактеріологічний метод.
- B. Імуноферментний метод.
- C. Серологічний метод.
- D. Проба з фагом
- E. Алергічний метод.

4. В лікарню звернувся ветфельдшер зі скаргами на високу температуру (38 °C), головний і м'язовий біль, які продовжувалися більше тижня. При клінічному обстеженні поставили діагноз “бруцельоз?”. Які з перерахованих методів лабораторної діагностики найдоцільніше використовувати в цей період захворювання?

- A. Серологічний метод.
- B. Бактеріологічний метод.
- C. Біологічний метод.
- D. Проба з фагом.
- E. Мікроскопічний метод.

5. При плановому обстеженні доярок ферми, де раніше спостерігалися захворювання корів на бруцельоз, була використана шкіряно-алергічна проба. Яка з приведених проб була використана?

- A. Проба з антраксином.
- B. Проба Бюрне.
- C. Проба Манту.
- D. Проба з туляріном.
- E. Проба Шикю.

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення схеми виділення чистої культури *Bacillus anthracis*.
2. Мікроскопія готових мазків із чистої культури *Bacillus anthracis*.
3. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
4. Замальовування препаратів в протокол.
5. Розбір і запис схеми лабораторної діагностики сибірської виразки і бруцельозу в протокол. Оформлення протоколу.
6. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 34

**Тема:** Мікробіологічна діагностика бордетеліозів і  
клебсієльозів.

**Мета:** Вивчення методів мікробіологічної діагностики,  
терапії і профілактики кашлюку і захворювань, викликаних  
клебсієлами.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокариоти і еукариоти.

**Тема 16.** Збудник кашлюку.

**Актуальність теми.** Збудник кашлюку. Кашлюк - інфекційна хвороба, що викликається *Bordetella pertussis* та характеризується нападами спазматичного кашлю. Спостерігається переважно у дітей дошкільного віку. Збудник кашлюку був відкритий в 1906 р. Ж. Борде і О. Жангу.

Таксономія. Збудник кашлюку відноситься до відділу *Gracilicutes*, роду *Bordetella*.

Морфологія і тинкторіальні властивості. *B. pertussis* – дрібна овоїдна грамнегативна паличка із закругленими кінцями довжиною 0,5-1,2 мкм. Спор і джгутиків не має, утворює мікрокапсулу.

Культивування. *B. pertussis* - строгий аероб, оптимальна температура для зростання 37 °С, рН середовища 7,2; дуже вимоглива до живильних середовищ, росте на середовищах Борде-Жангу (картопляно-гліцериновому агарі з додаванням крові), на якому утворюються колонії, схожі на крапельки ртуті, і казеїново-вугільному агарі (КВА), утворюючи сірувато-кремові колонії.

Ферментативна активність. *B. pertussis* біохімічно інертна.

Антигенна структура. Бордетели мають О-антиген, що складається з 14 компонентів (факторів). *B. pertussis* володіє обов'язковими чинниками 1, 7, а також 2, 3, 4, 5, 6 в різних комбінаціях. Залежно від їх поєднання розрізняють серовари *B. pertussis*.

Фактори патогенності. *B. pertussis* має ендотоксин, що викликає лихоманку, білковий токсин, що володіє антифагоцитарною активністю і стимулюючий лімфоцитоз, ферменти агресії, що підвищують судинну проникність, володіють гистамін-сенсibiliзуючою дією, викликають загибель епітеліальних клітин. У адгезії бактерій беруть участь гемаглютинін, пілі і білки зовнішньої мембрани.

Резистентність. Збудник кашлюку дуже нестійкий в навколишньому середовищі.

Сприйнятливність тварин. При інтраназальному введенні культури *V. pertussis* білим мишам розвивається пневмонія.

Епідеміологія. Кашлюк - антропонозне захворювання; джерелом інфекції є хворі люди (особливо небезпечні в початковій стадії хвороби) і носії. Передача інфекції здійснюється повітряно-краплинним шляхом.

Патогенез. Вхідними воротами інфекції є верхні дихальні шляхи, де розвивається катаральне запалення. В результаті постійного роздратування токсином рецепторів дихальних шляхів з'являється кашель, надалі в дихальному центрі утворюється вогнище збудження і напади кашлю можуть бути викликані і неспецифічними подразниками. У виникненні нападів кашлю має також значення сенсibiliзація організму до токсинів *V. pertussis*.

Клінічна картина. Інкубаційний період складає 2-14 днів. З'являються нездужання, невисока температура тіла, невеликий кашель, нежить. Пізніше починаються напади спазматичного кашлю, що закінчуються виділенням мокроти. Таких нападів може бути від 5 до 50 в добу. Захворювання продовжується до 2 міс. Розрізняють легку, середньоважку і важку форми кашлюку.

Імунітет. Після перенесеного захворювання виробляється стійкий імунітет, який зберігається впродовж всього життя.

Мікробіологічна діагностика. Матеріалом для дослідження є слиз з верхніх дихальних шляхів. Основний метод діагностики бактеріологічний. Для ретроспективної діагностики застосовують серологічний метод (РА, РЗК, РПГА).

Лікування. При важких формах кашлюку призначають антибіотики, нормальний гомологічний імуноглобулін. Рекомендуються антигістамінні препарати, холодне свіже повітря.

Профілактика. Для специфічної профілактики кашлюку застосовують адсорбовану кашлюково-дифтеріїно-правцеву вакцину (АКДП). Вводять її дітям починаючи з 4 міс. Дітям до 1 року і неприщепленим при контакті з хворим вводять нормальний людський імуноглобулін.

Збудник паракашлюка - *Bordetella parapertussis* - викликає схоже з кашлюком захворювання респіраторних шляхів у людини, але воно має більш легкий перебіг. За морфологічними ознаками і умовами культивування нагадує збудник кашлюку.

Клебсієли. Бактерії отримали назву на честь Е. Клебса, який вперше описав мікроб в 1875 р. Рід *Klebsiella* відноситься до сімейства *Enterobacteriaceae*, включає 4 види: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. terrigena*, які відрізняються за біохімічними властивостями.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Клебсієли - неутворюючі спору нерухомі палички, розташовані одинично, парами або короткими

ланцюжками. Зазвичай мають капсулу, яка є характерною морфологічною ознакою.

Культивування. Клебсієли добре ростуть на простих живильних середовищах. На поверхні щільних живильних середовищ утворюють куполоподібні слизисті колонії. У рідких середовищах викликають інтенсивне помутніння.

Антигенна структура. Клебсієли мають соматичні O-антигени (більше 10 серогруп) і більше 80 варіантів капсульних K-антигенів.

Патогенез і захворювання у людини. *K. pneumoniae* або паличка Фрідлендера є збудником неспецифічних інфекцій дихальних шляхів (бронхітів, пневмоній), органів сечовивідної системи, харчової токсикоінфекції. Цей мікроб може також викликати гнійні післяродові ускладнення, неонатальну інфекцію, яка виявляється у вигляді пневмоній у новонароджених, кишкової інфекції і токсико-септичних станів, що закінчуються летальним результатом. Крім того, клебсієли пневмоній можуть викликати менінгіт, сепсис, цистит і інші захворювання. Нерідко штами клебсієл є збудниками внутрішньолікарняних інфекцій.

*K. ozaenae* викликає ураження слизової оболонки носа і додаткових пауз, що супроводжується виділенням смердючого секрету.

*K. oxytoca* викликає внутрішньолікарняні інфекції в урологічній клініці.

Клебсієли риносклероми (*K. rhinoscleromatis*) - вражають слизову оболонку носоглотки, гортані, трахеї, бронхів. У тканинах утворюються гранулеми з подальшим рубцюванням. Хвороба протікає хронічно. Можливі летальні результати.

Мікробіологічна діагностика. Застосовується бактеріологічний метод дослідження, який передбачає виділення чистої культури збудника з мокроти, сечі, випорожнень, крові, гною, залежно від локалізації процесу, шляхом посіву досліджуваного матеріалу на лактозовмісні диференційні живильні середовища з подальшим виділенням чистої культури збудника і його ідентифікації до виду і підвиду. Ідентифікацію клебсієл проводять за морфологічними, культуральними, біохімічними і серологічними ознаками в РЗК з сироватками хворих.

Профілактика і лікування. Засобів специфічної профілактики не існує. Профілактика здійснюється шляхом раннього виявлення хворих, ізоляції їх від здорових людей. Для лікування використовують клебсієльозний бактеріофаг і антибіотики широкого спектру дії, чому передують визначення антибіотикограми.

### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити диференціацію збудника кашлюку і паракашлюку за морфологічними, культуральними і біохімічними властивостями.

2. Вивчити морфологію, культуральні, біохімічні властивості клебсієл.
3. Вивчити джерела, шляхи передачі і деякі клінічні прояви бордетеліозів і клебсієльозів.
4. Вивчити методи мікробіологічної діагностики.
5. Трактувати результати мікроскопічного дослідження.
6. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії.

**Уміти:**

1. Забирати матеріал для дослідження від хворих методом кашльових пластинок, тампоном.
2. Виділити чисту культуру
3. Трактувати результати мікроскопічного дослідження

**Теоретичні питання.**

Збудники кашлюку, прпкашлюку, клебсієли:

1. Властивості. Резистентність.
2. Патогенність для людини і тварин. Фактори патогенності, токсини.
3. Патогенез захворювання у людей, імунітет.
4. Мікробіологічна діагностика.
5. Специфічна профілактика і лікування.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
2. Вивчення колекції живильних середовищ.
3. Вивчення біопрепаратів для лабораторної діагностики і специфічної профілактики кашлюку.
4. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
5. Розбір схеми лабораторної діагностики кашлюку і клебсієльозної інфекції.
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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з приготування мазка з капсульних бактерій (забарвлення за методом Буррі-Гінса) і вивчення морфології збудника в мікропрепаратах. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.

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

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

### **Цільові навчальні завдання:**

1. Під час мікроскопії мокроти хворого на крупозну пневмонію виявлена значна кількість грамнегативних паличок, оточених капсулою. Виявлення якого збудника слід чекати?

- A. Chlamydia pneumoniae
- B. Klebsiella pneumoniae
- C. Streptococcus pneumoniae
- D. Staphylococcus aureus
- E. Escherichia coli

2. В будинку дитини планується вакцинація грудних дітей проти кашлюку. Який з приведених препаратів використовується для цього?

- A. Типоспецифічна сироватка
- B. Вакцина БЦЖ
- C. Вакцина АКДП
- D. Нормальний гама-глобулін
- E. АДП анатоксин

3. У хворого на хронічний простатит отримали секрет простати. У зв'язку з тим, що збудником захворювання може бути Klebsiella pneumoniae, яке з перерахованих елективних живильних середовищ необхідно використовувати для виділення цього мікроорганізму?

- A. Борде-Жангу
- B. КВА
- C. Вісмут-сульфітний агар
- D. Гліцериновий агар
- E. Кітта-Тарощі

4. У хворого на хронічний стоматит змиви зі слизистої оболонки ротової порожнини направили в баклабораторію. У зв'язку з тим, що збудником захворювання може бути Klebsiella pneumoniae, який з перерахованих методів необхідно використовувати для виявлення капсули при проведенні бактеріоскопічного дослідження мазків?

- A. За Буррі.
- B. За Цилем-Нільсенем.
- C. За Буррі-Гінсом.
- D. За Ожешко.
- E. За Ганзеним.

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

- A. Антитоксини.
- B. Опсоніни.
- C. Преципітини.
- D. Бактеріолізини.
- E. Аглютиніни.

6. При проведенні бактеріологічного дослідження мокроти хворого з підозрою на кашлюк на чашці Петрі вирости сірувато-кремові колонії. Відомо, що паличка кашлюку дуже вимоглива до живильних середовищ. На якому живильному середовищі вирости дані колонії?

- A. Агарі Ендо
- B. Лужному агарі
- C. Вісмут-сульфітному агарі
- D. Кров'яному агарі
- E. Казеїново-вугільному агарі

7. При мікроскопії мазків виділень з уретри, забарвлених методом Буррі-Гінса, були виявлені капсулоутворюючі палички. Які з приведених нижче мікробів постійно утворюють капсули?

- A. *Proteus vulgaris*
- B. *Klebsiella pneumoniae*
- C. *Escherichia coli*
- D. *Enterobacter cloacae*
- E. *Proteus mirabilis*

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення схеми виділення чистої культури.
2. Мікроскопія готових мазків з чистої культури.
3. Ознайомлення з правилами забору матеріалу від хворих для мікроскопії досліджуваного матеріалу.
4. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
5. Замальовування препаратів в протокол.
6. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.
7. Оформлення протоколу.
8. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 35

**Тема: Мікробіологічна діагностика сифілісу.**

**Мета: Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики сифілісу.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 13.** Спірохетози.

**Актуальність теми.** Збудник сифілісу. Сифіліс - інфекційне венеричне захворювання, що викликається *Treponema pallidum* та характеризується ураженням шкіри, внутрішніх органів, кісток, нервової системи. Розрізняють набутий і приданий сифіліс.

Таксономія. Збудник сифілісу - бліда трепонема (*Treponema pallidum*) - відкритий в 1905 р. Ф. Шаудинном і Е. Гоффманом; відноситься до сімейства Spirochaetaceae, відділу Gracilicutes.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Назву «бліда» трепонема отримала із-за низької здібності до забарвлення. Існують інші патогенні трепонеми: *T. pertenuis* - збудник фрамбезії, *T. carateum* - збудник пінти, *T. bejel* - збудник хронічного генералізованного спірохетозу (беджель). Вказані збудники і хвороби, що викликаються ними, частіше зустрічаються в регіонах з жарким і вологим кліматом. Бліда трепонема - тонка бактерія спіралевидної форми, завдовжки від 4 до 14 мкм, з рівномірними дрібними завитками (8-14 завитків); разом зі спіралевидною може мати інші форми - у вигляді цист, гранул, L-форм; забарвлюється за Романовським-Гімзою в характерний слабо-рожевий колір. Рухи від гвинтоподібних до згинальних.

Культивування. Бліда трепонема - облигатний анаероб, надзвичайно вибаглива до живильних середовищ. Культурована на живильних середовищах трепонема - культуральна спірохета - відрізняється від патогенною меншою вірулентністю, проте їх антигени схожі, що використовується при серодіагностиці сифілісу.

Антигенна структура. Бліда трепонема характеризується антигенними зв'язками з іншими трепонемами, а також ліпоїдами тканин тварин і людини. Встановлено декілька антигенів у збудника, один з яких - ліпоїдний антиген - ідентичний ліпоїдному екстракту бичачого серця.

Резистентність. У навколишньому середовищі бліда трепонема слабостійка; при 55 °С гине протягом 15 хв, чутлива до висихання, світла, солей ртуті, вісмуту, миш'яку, пеніциліну. На предметах домашнього ужитку

зберігає заразливість до моменту висихання; добре зберігається в тканині трупа.

Епідеміологія. Джерело інфекції - хвора людина. Зараження відбувається переважно статевим шляхом, рідко - через предмети домашнього вжитку (стакани, зубні щітки, цигарки і ін.), забруднені виділеннями від хворого; можливе зараження через поцілунки, молоко годуючої матері (побутовий сифіліс), не виключені випадки зараження при переливанні крові від донорів, хворих на сифіліс.

Патогенез і клінічна картина. Збудник сифілісу проникає в організм через шкіру або слизисту оболонку, розповсюджується по органах і тканинах, викликаючи їх ураження. Інкубаційний період триває в середньому 3-4 тиж. Після інкубаційного періоду сифіліс протікає циклічно у вигляді первинного, вторинного і третинного періодів. У місці впровадження збудника (на статевих органах, в ротовій порожнині і т.д.) з'являється первинне ураження - твердий шанкр - різко відмежоване ущільнення з виразкою на поверхні. Вторинний період сифілісу триває 3-4 роки, характеризується висипом, порушенням загального стану організму. Третинний період характеризується ураженням шкіри, слизистих оболонок, внутрішніх органів, кісток, нервової системи: з'являються утворення, схильні до розпаду, виразки.

Імунітет. Природженого імунітету до сифілісу не існує. При сифілісі розвивається нестерильний імунітет; після лікування імунітет не зберігається, тому можливі повторні захворювання.

Мікробіологічна діагностика. Для виявлення блідої трепонеми у виділеннях із твердого шанкра застосовують мікроскопію в темному полі. До кінця первинного і у вторинному періоді стають позитивними серологічні реакції Вассермана, осадкові реакції Кана, цитохолева і інші проби, що виявляють антитіла до блідої трепонеми. При масових обстеженнях застосовують мікрореакцію на склі з краплею крові або сироватки і спеціальним антигеном. У дослідницьких лабораторіях використовують також реакцію іммобілізації блідих трепонем (РІБТ) і інші сучасні методи.

Лікування. Найбільш ефективними антимікробними засобами є антибіотики ряду пеніциліну. Застосовують також препарати вісмуту, йоду і ін.

Профілактика. Специфічна профілактика відсутня. Неспецифічна профілактика полягає в дотриманні правил гігієни, а також в проведенні комплексу санітарно-гігієнічних заходів суспільного характеру: облік хворих на сифіліс, шпиталізація всіх хворих із заразливими формами, залучення до обстеження всіх членів сім'ї хворого, систематичне обстеження груп ризику, виховання населення і т.д.

**Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з морфологією збудника сифілісу.
2. Визначити особливості клінічного перебігу сифілісу.
3. Визначити поняття «тканинні» і «культуральні» трепонеми.
4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження.
5. Вивчити методи серологічної діагностики сифілісу.
6. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії.

**Уміти:**

1. Забирати матеріал для дослідження від хворих
2. Тракувати результати мікроскопічного дослідження
3. Уміти проводити реакцію Вассермана

**Теоретичні питання:**

1. Збудник сифілісу: властивості.
2. Цілі постановки реакції Вассермана.
3. Діагностична цінність реакції Вассермана і осадкових реакцій.
4. Механізм реакції Вассермана.
5. Особливості імунітету при сифілісі.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
2. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Розбір схеми лабораторної діагностики.
4. 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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота: постановка реакції Вассермана, облік реакції Вассермана і запис в протокол, розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка в протокол заняття.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. У ШВД поступив хворий з діагнозом «первинний сифіліс». Який з перерахованих методів діагностики використовують на даній стадії захворювання?

- А. Темнопольну мікроскопія; В. Реакцію імобілізації блідих трепонем;  
С. РП в гелі D. РА E. Непряму імунофлюоресценцію

2. При обстеженні хворого в шкірно-венерологічному диспансері були виявлені папульозно-розеольозні висипання на тулубі і кінцівках і збільшення лімфатичних вузлів. Встановлений діагноз «сифіліс». Яким методом лабораторної діагностики цей діагноз може бути підтверджений?

- А. Алергічним B. Біологічним C. Бактеріологічним  
D. Бактеріоскопічним E. ІФА

3. Під час прийому лікар-стоматолог виявив у хворого в ротовій порожнині твердий шанкр. Який з перерахованих методів лабораторної діагностики можна застосувати для постановки діагнозу?

- А. Реакцію імобілізації блідих трепонем B. Реакцію Вассермана  
С. Реакцію Кана D. РА E. Бактеріоскопічний

4. У жіночу консультацію прийшла жінка на 8 тижні вагітності. При обстеженні у неї узяли кров для перевірки на наявність специфічних анти-тіл до трепонем. Яка з перерахованих нижче серологічних реакцій може бути використана для виявлення антитіл до трепонем?

- А. Реакція Райта B. Реакція Вассермана C. Реакція Відаля  
D. Реакція Борде-Жангу E. РГГА.

**Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення схеми лабораторної діагностики сифілісу.

2. Мікроскопія готових мазків з культуральних і тканинних трепонем.

3. Ознайомлення з правилами забору матеріалу від хворих для мікроскопії досліджуваного матеріалу.

4. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.

5. Зарисовка препаратів в протокол.

6. Запис схем лабораторної діагностики в протокол.

7. Оформлення протоколу.

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

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 36

### Тема: Мікробіологічна діагностика лептоспірозів і бореліозів.

**Мета: Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики захворювань, викликаних лептоспірами і бореліями.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокариоти і еукариоти.

**Тема 13.** Спірохетози.

**Актуальність теми.** Збудник лептоспірозу. Лептоспіроз - інфекційне захворювання, що викликається *Leptospira interrogans* та характеризується ураженням кровоносних капілярів, печінки, нирок, м'язів, ЦНС, що нерідко супроводжується жовтяницею.

Таксономія. Збудник лептоспірозу відноситься до відділу *Gracilicutes*, сімейства *Leptospiraceae*, роду *Leptospira*.

Морфологія і тинкторіальні властивості. Лептоспіри - бактерії, що мають звиту форму, завдовжки 7-14 мкм, завтовшки 0,1 мкм; характеризуються наявністю численних дрібних завитків, кінці лептоспір заломлені у вигляді гачків (вторинні завитки). Не утворюють спор і капсул; рухомі - здійснюють поступальні, обертальні, згинальні рухи. Лептоспіри аніліновими фарбниками фарбуються погано, за Романовським-Гимзою забарвлюються в рожевий колір, грамнегативні. Оптимальний спосіб вивчення їх морфології - темнопольна мікроскопія.

Культивування. Лептоспіри культивують в аеробних умовах на спеціальних живильних середовищах з нативною кролячою сироваткою при 28-30 °C і рН 7,2-7,4. Ростуть поволі.

Ферментативна активність. Біохімічна активність лептоспір невисока.

Антигенна структура. Серед представників роду *Leptospira* виділяють близько 200 сероваров, об'єднаних в 19 серологічних груп. Родоспецифічним є полісахаридний фібрилярний антиген, приналежність до групи і варіанту визначається відповідно оболонковими білковим і ліпопротеїновим антигенами.

Фактори патогенності. Патогенні властивості лептоспір обумовлені утворенням маловивчених екзотоксिनоподібних речовин і ендотоксинів. Лептоспіри, крім того, продукують фібринолізин і плазмокоагулазу.

Резистентність. Лептоспіри дуже швидко гинуть при дії високих температур, дезінфікуючих засобів, але достатньо стійкі до низьких темпера-

тур. У воді природних водоймищ зберігають життєздатність протягом 5-10 днів, в сирому ґрунті - до 270 днів.

Сприйнятливність тварин. Багато тварин чутливі до лептоспір.

Епідеміологія. Лептоспіроз - широко поширений зооноз, зустрічається у всіх частинах світу. Існують природні вогнища лептоспірозу - переважно в лісах, заболочених місцевостях, річках. Джерелом інфекції в них є дикі тварини - гризуни, лисиці, пєсці і ін. Сеча тварин потрапляє у воду, забруднює ґрунт, рослинність. Захворюваність характеризується строгою сезонністю (червень - вересень) і пов'язана з сільськогосподарськими роботами (косіння лугів, прибирання сіна), а також збором грибів, ягід, полюванням, рибалкою. У сільській місцевості джерелом інфекції можуть бути домашні тварини: свині, велика рогата худоба, собаки. Зараження може відбуватися харчовим шляхом, наприклад при вживанні молока. Можливий також контактнопобутовий шлях передачі - при догляді за хворими тваринами. Проте основний шлях передачі інфекції - водний. Нерідко в сільській місцевості при купанні людей в забруднених сечею хворих тварин водоймищах виникають «купальні» спалахи. Можливі випадки лептоспірозу також в портових містах, де багато шурів.

Патогенез. Вхідні ворота інфекції - слизисті оболонки ротової порожнини, очей, носа, шкіра. Лептоспіри розповсюджуються по лімфатичних шляхах, проникають в кров і током крові розносяться по організму, потрапляючи в різні органи - печінку, нирки, легені і т.д. У органах мікроорганізми інтенсивно розмножуються, потім знов поступають в кров. У результаті дії збудників і їх токсинів ушкоджується стінка кровоносних капілярів і спостерігаються крововиливи в різні органи і тканини. Більше всього страждають печінка, нирки, надниркові залози, серце, м'язи.

Клінічна картина. Інкубаційний період зазвичай продовжується 7-10 днів, захворювання - 5-6 тиж. Хвороба, як правило, починається гостро, температура тіла підвищується до 39-40 °С, з'являються головний біль, різкі болі в м'язах, особливо в литкових. Залежно від ураження тих або інших органів з'являються симптоми їх пошкодження: ниркова недостатність, жовтяниця і ін. Характерна хвилеподібна лихоманка. Клінічні форми лептоспірозу різні - від легких до важких, таких, що приводять до смерті.

Імунітет. Імунітет тривалий, напружений, але характеризується строгою серовароспецифічністю.

Мікробіологічна діагностика. Як матеріал для дослідження на 1-му тижні захворювання беруть кров, пізніше можна використовувати сечу, спинномозкову рідину. Застосовують бактеріоскопічний метод («темнопольна мікроскопія»): бактеріологічний, біологічний методи. Але найши-

рше використовують серологічний метод (РЗК, РНГА, РА, реакцію лізи-су); по наростанню титру антигін судять про наявність захворювання.

Лікування. Застосовують антибіотики і протилептоспірозний гетерологічний імуноглобулін.

Профілактика. Неспецифічна профілактика полягає в дотриманні ряду правил: не можна вживати сиру воду з непроточних водоймищ для пиття і умивання, купатися в невеликих водоймищах, особливо в місцях водопою худоби. Для специфічної профілактики за епідемічними показаннями використовують убиту вакцину.

Збудник епідемічного поворотного тифу. Епідемічний поворотний тиф (*Typhus recurrens*) - інфекційне захворювання, що викликається *Bogtelia recurrens* та характеризується нападами лихоманки з м'язовими і головними болями, що змінюються безлихоманковими періодами. Антропонозне захворювання. Спірохета відкрита в 1868 р. німецьким лікарем О. Обермейером.

Борелії - крупні спірохети з великими нерівномірними завитками; гра-мнегативні, рухомі.

Переносником збудників є платяна воша. При кровосанні борелії від хворого поступають в кишечник воші і можуть зберігатися там протягом всього її життя. Зараження відбувається в результаті роздавлювання воші, втирання збудників, що містяться в гемолімфі, в розчіси. Борелії, що потрапили в організм, захоплюються макрофагами і лімфоїдними клітинами і по мірі розмноження поступають у кров. Руйнуючись, звільняють ендотоксини, що є причиною клінічних проявів, - ознобу, підвищення температури тіла, головних і м'язових болів і інших симптомів. Інкубаційний період в середньому складає 7-8 днів.

Постінфекційний імунітет нестійкий і нетривалий.

Лікування проводять антибіотиками.

Специфічна профілактика не розроблена. Основні заходи боротьби зводяться до знищення вошів, виявлення хворих, санітарної обробки осіб, що знаходилися у вогнищі.

Мікробіологічна діагностика базується на виявленні борелії в мазках із крові хворого, забарвлених за Романовському-Гімзою. Допоміжне значення мають серологічні реакції.

Для диференціації з ендемічним висипним тифом застосовують зараження морських свинок кров'ю хворого.

### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити методи мікробіологічної діагностики лептоспірозів і бореліозів.
2. Тракувати результати мікроскопічного дослідження.
3. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії.

### **Уміти:**

1. Забирати матеріал для дослідження від хворих.
2. Виділити чисту культуру.
3. Трактувати результати мікроскопічного дослідження.

### **Теоретичні питання:**

1. Властивості збудника – резистентність, патогенність для людини і тварин, патогенез захворювання у людей, імунітет.
2. Мікробіологічна діагностика.
3. Специфічна профілактика і лікування.

### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
2. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Розбір схеми лабораторної діагностики
4. Оформлення протоколу.

### **Література:**

11. 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. 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 до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.

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

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

### **Цільові навчальні завдання:**

1. В інфекційне відділення постувила робітниця тваринницької ферми з температурою 40 °С, сильними головними і м'язовими болями, гіперемі-

єю обличчя і загальною слабкістю. При опиті з'ясувалося, що вищезгадані симптоми з'явилися 2 дні тому. Лікар запідозрив лептоспіроз. Який метод лабораторної діагностики дозволить найшвидше підтвердити діагноз?

- A. Біологічний
- B. Бактеріологічний
- C. Алергічний
- D. Серологічний
- E. Мікроскопічний

2. У інфекційне відділення поступив хворий з попереднім діагнозом «лептоспіроз». З анамнезу стало відомо, що хворіє не більш 3-х днів. Який досліджуваний матеріал необхідно забрати у хворого для підтвердження діагнозу?

- A. Слину;
- B. Кров;
- C. Жовч;
- D. Сечу;
- E. Випороження.

3. Виявлений спалах лептоспірозу у шахтарів. Які з препаратів необхідно використовувати для специфічної профілактики?

- A. Анатоксин;
- B. Живу вакцину
- C. Убиту вакцину
- D. Хімічну вакцину
- E. Антилептоспірозу сироватку.

4. При мікроскопії нативного препарату крові в темному полі виявлені спіралевидні сріблясто-білі мікроорганізми, кінці яких гачкувато заломлені. Збудник якого захворювання був виявлений в мазках?

- A. Холери;
- B. Сифілісу;
- C. Лептоспірозу;
- D. Епідемічного поворотного тифу;
- E. Ендемічного поворотного тифу.

5. До лікаря - інфекціоніста звернулася жінка зі скаргами на високу температуру, яка продовжується вже більше 5 днів, головний і м'язовий біль. При огляді лікар виявив збільшення печінки і селезінки, а так само жовтушність шкіряних покривів і запідозрив лептоспіроз. Який метод лабораторної діагностики найдоцільніше застосувати для підтвердження діагнозу?

- A. Мікроскопію крові;
- B. Мікроскопію сечі;
- C. Серологічний;
- D. Алергічний
- E. Біологічний

6. Хворого чоловіка госпіталізували на 2 день хвороби з жовтушністю шкіряних покривів, болем у м'язах, ознобом, носовою кровотечею. При проведенні лабораторної діагностики лікар використовував темнопольну мікроскопію крові хворого. Внаслідок чого виявив рухомі звитої форми мікроорганізми. Назвіть збудника захворювання.

- A. Bartonella bacilloformis;
- B. Borrelia duttonii
- C. Leptospira interrogans
- D. Rickettsia mooseri
- E. Всі відповіді не вірні

7. У інфекційне відділення був госпіталізований хворий з лихоманкою, що періодично повторювалася. У препараті крові, забарвленому за Романовським-Гимзою, були виявлені спіралевидні мікроорганізми синьо-фіолетового кольору з декількома великими завитками. Збудник якого захворювання був виявлений?

- A. Поворотного тифу;
- B. Черевного тифу;
- C. Малярії
- D. Висипного тифу
- E. Лептоспірозу

8. У інфекційну лікарню госпіталізували хворого з попереднім діагнозом епідемічний поворотний тиф. Який матеріал, узятий від хворого, необхідно досліджувати перш за все?

- A. Сечу;
- B. Кров;
- C. Ліквор;
- D. Фекалії;
- E. Змиви з носової частини глотки

9. Для діагностики лептоспірозу використовують серологічний метод лабораторної діагностики. Яка з реакцій при цьому застосовується?

- A. Реакція мікроаглютинації і лізису;
- B. Розгорнена РА;
- C. РГА;
- D. РНГА;
- E. РН.

**Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення схеми виділення чистої культури.
2. Мікроскопія готових мазків з чистої культури.
3. Ознайомлення з правилами забору матеріалу від хворих для мікроскопії досліджуваного матеріалу.
4. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
5. Замальовування препаратів в протокол.
6. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.
7. Оформлення протоколу.
8. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 37

**Тема: Патогенні найпростіші. Малярія.**

**Мета: Вивчення методів мікробіологічної діагностики малярії.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 20.** Медична протозоологія.

**Актуальність теми.** Збудники малярії. Малярія - антропоозна інфекційна хвороба, що викликається декількома видами простіших роду *Plasmodium*, передається комарами (*Anopheles*), супроводжується лихоманкою, анемією, збільшенням печінки і селезінки.

Збудники малярії відносяться до Protozoa, типу Apicomplexa, класу Sporozoa і видам *Pl. vivax*, *Pl. malariae*, *Pl. falciparum*, *Pl. ovale*.

Життєвий цикл плазмодіїв проходить в організмі комара (остаточному господарі) і організмі людини (проміжному господарі). У організмі комара відбувається статеве розмноження, або спорогонія (утворення дрібних клітин - спорозоїтів), а в організмі людини здійснюється безстатеве розмноження - шизогонія або, точніше, мерогонія, при якій утворюються дрібні клітини - мерозоїти. При укусі спорозоїти із слинних залоз комара потрапляють у кров, потім проникають в печінку, в клітинах якої здійснюється перший етап мерогонії - тканинна мерогонія (шизогонія). У клітинах печінки спорозоїт переходить в стадію тканинного шизонта, після розвитку якого настає ділення (меруляція), що завершується утворенням тканинних мерозоїтів, що поступають у кров. Мерозоїти проникають в еритроцити, в яких здійснюється декілька циклів еритроцитарної мерогонії (шизогонії). При цьому мерозоїти перетворюються на форми паразита (трофозоїти), що ростуть, в еритроциті: кільцеподібний, юний, дорослий трофозоїт. Останній ділиться і перетворюється на шизонт. З шизонтів, що діляться, утворюються мерозоїти, що упрощуються в інші еритроцити; цей процес повторюється багато разів. У еритроцитах мерозоїти дають початок як безстатевим формам трофозоїта (агамонтам), так і статевим формам (гамонтам). Тривалість циклу розвитку у *Pl. vivax*, *Pl. falciparum*, *Pl. ovale* складає 48 год, у *Pl. malariae* - 72 год. При укусі статеві форми збудника потрапляють разом з кров'ю хворої людини в шлунок самок комарів. У комарі гамонти приступають до гаметогонії. Статеві форми дозрівають і запліднюються, утворюючи зиготу, що перетворюється на подовжену, рухому форму, - оокинету. Оокинета проникає через стінку шлунка і перетворюється на ооцисту, в якій завершується спорогонія з

утворенням до 10 тис. спорозоїтів. Спорозоїти потім потрапляють через гемолімфу в слинні залози комара.

Характеристика збудників. *Pl. vivax* відкритий в 1890 р. В. Грассі і Р. Фелетті. Є збудником триденної малярії. У еритроциті при забарвленні мазка з крові за Романовським-Гімзою має форму кільця правильної форми: крупна вакуоль в центрі, облямована блакитною цитоплазмою з рубиново-червоним ядром (кільцеподібний трофозоїт). Іноді в одному еритроциті зустрічається 2-3 кільця. Напівдорослий трофозоїт має в еритроциті форму амеби з псевдоподіями. На деяких стадіях розвитку в ураженому еритроциті виявляється цегляно-червона зернистість. У стадії ділення паразита утворюється 12-24 мерозоїта.

*Pl. malariae* відкритий в 1880 р. А. Лавераном. Є збудником чотириденної малярії. Напівдорослий трофозоїт усередині еритроцита відрізняється від форм *Pl. vivax*, оскільки має стрічкоподібну форму і паразит ділиться на 6-12 мерозоїтів, розташованих впорядковано навколо пігменту, зазвичай у вигляді розетки.

*Pl. falciparum* відкритий в 1897 р. У. Уелчем. Є збудником тропічної малярії. Характерна наявність юних форм паразита у вигляді дрібних кілець в еритроциті, часто по 2-3 в одному еритроциті, а також поява в периферичній крові статевої клітини у вигляді полулуні.

*Pl. ovale* відкритий в 1922 р. Ж. Стівенсеном. Є збудником триденної малярії. Паразит у стадії кільця в еритроциті має крупніше ядро, ніж в кільці *Pl. vivax*. Деякі еритроцити мають овальну форму. У еритроциті виявляється зернистість. Паразит ділиться на 6-12 мерозоїтів.

Епідеміологія. На малярію хворіють сотні мільйонів чоловік, що живуть в країнах тропічного клімату, що визначає важливість проблеми завезення малярії в нашу країну. Джерело інфекції - інвазована людина; переносник - самка комара роду *Anopheles*. Основний механізм передачі - трансмісивний, через укусу інвазованої самки комара.

Патогенез і клінічна картина. Інкубаційний період при різних формах малярії коливається від тижня до року і більш. Малярії властивий нападopodobний перебіг: озноб з сильним головним болем змінюється підйомом температури тіла до 39-40 °С і вище, після чого відбувається швидке зниження температури тіла з рясним потовиділенням і вираженою слабкістю.

Імунітет. При захворюванні формується нестійкий видоспецифічний нестерильний імунітет. Можливі повторні захворювання.

Мікробіологічна діагностика. Заснована на приготуванні мазків з крові, забарвленні їх за Романовським-Гімзою, мікроскопії і виявленні різних форм збудника; застосовують РНГА, ІФА, ДНК-гібридизацію для виявлення ДНК паразитів в крові.

Лікування і профілактика. Протималярійні препарати мають різну дію на безстатеві, статеві стадії плазмодіїв. До основних протималярійних препаратів відносять хінін, хлорохин, акрихін, прімахин, хиноцид, бігумаль, хлоридин і ін.

Профілактичні заходи направлені на джерело збудника (лікування хворих малярією і носіїв) і знищення переносників збудника - комарів. Розробляються методи вакцинації на основі антигенів, отриманих методом іншої інженерії.

**Конкретні цілі:**

1. Ознайоміться з класифікацією патогенних найпростіших.
2. Вивчити схему життєвого циклу малярійного плазмодія.
3. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією малярійних плазмодіїв.
4. Вивчити методи мікробіологічної діагностики малярії.

**Уміти:**

1. Проводити диференціацію різних видів малярійних плазмодіїв на стадії еритроцитарної шизогонії.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих на малярію.
3. Готувати препарати для дослідження крові хворих на малярію («тонкий мазок» і «товста крапля»).
4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.

**Теоретичні питання:**

1. Характеристика і класифікація простіших.
2. Етіологія малярії. Біологічні властивості малярійних плазмодіїв і їх диференціація за морфологічними властивостями.
3. Епідеміологія і патогенез малярії.
4. Методи мікробіологічної діагностики малярії.
5. Лікування і профілактика малярії.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів «товста крапля» з різними стадіями малярійних плазмодіїв на стадії еритроцитарної шизогонії.
2. Розбір схеми життєвого циклу малярійних плазмодіїв.
3. Розбір і запис схеми діагностики малярії.
4. Вивчення колекції протималярійних препаратів.
5. 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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення класифікації простіших і етіології, епідеміології, патогенезу малярії. Потім студенти вивчають методи мікробіологічної діагностики малярії, вчать готувати препарати «тонкий мазок» і «товста крапля» і визначають диференціальні особливості різних видів малярійних плазмодіїв на стадії еритроцитарної шизогонії. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

**Цільові навчальні завдання:**

1. Жінка прибула з Африки, скаржиться на пароксизмальні напади ознобу, рясне потовиділення, лихоманку. Ці напади тривають 1 або 2 дні і знову з'являються через кожних 36-48 годин. При дослідженні забарвлених мазків крові виявлена наявність декількох кільцеподібних форм усередині еритроцитів. Назвіть збудник даного захворювання.

A. *Plasmodium falciparum*

B. *Trypanosoma gambiense*

C. *Schistosoma mansoni*

D. *Plasmodium vivax*

E. *Wuchereria bancrofti*

2. У журналіста через 3 тижні після перебування в Індії різко підвищилася температура тіла, це супроводжувалося ознобом і головним болем. Через декілька годин температура знизилася. Напади почали повторюватися через день. У нього була діагностована тропічна малярія. Яка стадія розвитку плазмодія є інфекційною для самки комара анофелес?

A. Стадія шизонта

B. Стадія мікрогамети

C. Стадія мегозоїта

D. Стадія спорозоїта

E. Стадія гаметоцита

3. Відомо, що тривалість еритроцитарної шизогонії у різних видів малярійного плазмодія неоднакова. Яка тривалість циклу розвитку у *P. malariae*?

A. 36 годин.

B. 48 годин.

C. 24 години.

D. 72 години.

E. 96 годин.

4. При об'єктивному обстеженні хворого з анемією і скаргами на напади лихоманки, які супроводжуються періодами ремісії, виявлено збільшення печінки і селезінки. З анамнезу встановлено, що кілька днів тому він повернувся з Малі. Яке основне лабораторне дослідження з перерахованих слід провести для підтвердження діагнозу?

A. Виділення гемокультури.

B. Паразитоскопічне дослідження в електронному мікроскопі.

C. Мікроскопія товстої краплі і мазка крові, узятої під час нападу.

D. Серологічне дослідження.

E. Зараження лабораторних тварин.

5. В клініку поступив хворий з попереднім діагнозом: малярія, викликана *P. malariae*. Які з перерахованих морфологічних ознак має цей збудник на стадії меруляції в мазках, забарвлених за Романовським-Гімзою?

A. У збільшених еритроцитах - кількість мерозоїтів 6-8 у вигляді «квітки-маргаритки»

B. У збільшених еритроцитах - велика кількість мерозоїтів у вигляді «морули»

C. У еритроцитах периферичної крові ця стадія не визначається.

D. Округлі клітини з червоним ядром, блакитною цитоплазмою, 5 рожевими джгутіками і аксостилем

E. Округлі клітини з 1 ядром і кинетопластом

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Знайомство з класифікацією найпростіших.

2. Вивчення морфології малярійних плазмодіїв за схемами, таблицями і в демонстраційних препаратах.

3. Розбір схеми життєвого циклу малярійних плазмодіїв.

4. Вивчення правил забору крові хворих на малярію для мікроскопічного дослідження.

5. Вивчення правил приготування препаратів «тонкий мазок» і «товста крапля».

6. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів найпростіших.

7. Замальовування демонстраційних препаратів і схем життєвих циклів найпростіших в протокол.

8. Оформлення протоколу.

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

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 38

**Тема:** Патогенні найпростіші. Збудники трипаносомозів, лейшманіозів, токсоплазмозів, лямбліозів, трихомоноза і амебіаза.

**Мета:** Вивчення методів мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, токсоплазмами, лямбліями, трихомонадами і амебами.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 20.** Медична протозоологія.

**Актуальність теми.** Морфологія простіших, особливості класифікації.

Простіші - еукаріотичні одноклітинні мікроорганізми, складові підцарство Protozoa царства тварин (Animalia). Простіші включають 7 типів, з яких три типи (Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliophora) мають представників, що викликають захворювання у людини. Розміри найпростіших коливаються в середньому від 5 до 30 мкм. Простіші забарвлюються за Романовським-Гимзою (ядро - червоного, цитоплазма - синього кольору).

Збудник амебіаза. Амебіаз - інфекційна хвороба, що викликається *Entamoeba histolytica* та супроводжується виразковим ураженням товстої кишки; можливе утворення абсцесів в різних органах; протікає хронічно.

Збудник відноситься до Protozoa, типу Sarcomastidophora, підтипу Sarcodina. Відкритий в 1875 р. російським ученим Ф.А. Лісовиком.

Морфологія і культивування. Збудник існує в двох стадіях розвитку: вегетативній і цистній. Вегетативна стадія має декілька форм (тканинну, велику вегетативну, просвітну і передцистну). Циста (стадія, що покоїться) має овальну форму і діаметр 9-14 мкм; утворюється з вегетативних форм в кишечнику. Інфікування відбувається при попаданні цист збудника в кишечник, де з них утворюються кишкові вегетативні форми. Просвітна форма має розмір 15-20 мкм, вона пересувається поволі, мешкає в просвіті товстої кишки як нешкідливий коменсал, але за певних умов стає патогенною і перетворюється на тканинну, або інвазивну, форму. Тканинна форма має розмір біля 30 мкм і володіє рухливістю за рахунок формування псевдоподій. Вона може виявлятися в свіжовиділених фекаліях людини, проникає в стінку товстої кишки, викликає виразкові процеси, здатна фагоцитувати еритроцити (еритрофаг, або гематофаг).

Епідеміологія. Амебіаз - антропонозне захворювання. Джерелом інвазії є людина. Механізм передачі - фекально-оральний. Зараження відбувається при занесенні цист з продуктами харчування, особливо овочами і

фруктами, рідше - з водою, через предмети домашнього ужитку. Розповсюдженню цист сприяють мухи і таргани.

Патогенез і клінічна картина. Цисти, що потрапили в кишечник, і просвітні форми амеб, що утворилися, можуть мешкати в ньому, не викликаючи захворювання. При зниженні резистентності організму амеби проникають в стінку кишечника і розмножуються. Розвивається кишковий амебіаз. Цьому процесу сприяють деякі представники мікрофлори кишечника. Вражається з утворенням виразок верхній відділ товстої кишки, іноді - пряма кишка. Спостерігається частий рідкий стілець. У випорожненнях виявляють гнійні елементи і слиз. Може відбуватися перфорація кишкової стінки з розвитком гнійного перитоніту. Амеби з током крові можуть потрапляти в печінку, легені, головний мозок - розвивається позакишковий амебіаз. Можлива поява шкірного амебіаза, що розвивається як результат вторинного процесу. На шкірі періанальної області, промежини і сідниць утворюються ерозії і малохворобливі виразки.

Мікробіологічна діагностика. Основним методом є мікроскопічне дослідження випорожнень хворого, вмісту абсцесів внутрішніх органів. Мазки офарблюють розчином Люголя і гематоксиліном. Серологічні дослідження (РПГА, РЗК і ін.) при амебіазі бувають часто позитивними.

Лікування і профілактика. У лікуванні використовуються наступні препарати: що діють на амеб, що знаходяться в просвіті кишечника (похідні оксихиноліна - хиніофон, ентеросептол, мексаформ, інтестопан, а також з'єднання миш'яку - амінарсон, осарсол і ін.); що діють на тканинні форми амеб (препарати еметіна); що діють на просвітні форми амеб і амеб, що знаходяться в стінці кишки (тетрациклін); що діють на амеб при будь-якій їх локалізації (похідні імідазола - метронідазол).

Збудник токсоплазмоза. Токсоплазмоз - зоонозна інфекційна хвороба, що викликається внутрішньоклітинним паразитом *Toxoplasma gondii*, що супроводжується паразитемією, ураженням різних органів. У людини клінічні прояви поліморфні, або захворювання перебігає безсимптомно.

Збудник відноситься до Protozoa, типу Apicomplexa, класу Sporozoa. Відкритий в 1908 р. Ш. Ніколем і Л. Мансо.

Морфологія і культивування. У життєвому циклі токсоплазм розрізняють декілька морфологічних стадій. Характерну форму мають ендозойти (трофозойти) - апельсинова часточка або півмісяць розміром 4-7×1,5-2 мкм. При забарвленні за Романовським-Гімзою цитоплазма має блакитний колір, а ядро - рубіново-червоний. Токсоплазми культивують в курячих ембріонах і на культурах тканин, а також шляхом зараження лабораторних тварин - білих мишей і ін.

Епідеміологія. Токсоплазми поширені повсюдно. Джерелом інвазії служать багато видів домашніх і диких ссавців, а також птахи. Зараження

відбувається часто в результаті споживання термічно погано оброблених продуктів (м'ясо, молоко, яйця), отриманих від тварин, заражених токсоплазмами. Остаточними господарями токсоплазм є кішки і представники сімейства котячих, що виділяють з випорожненнями ооцисти збудника. Людина, інфікована токсоплазмами, не виділяє їх в навколишнє середовище.

Патогенез і клінічна картина. У організм людини збудники потрапляють аліментарним, рідше контактним (через пошкоджену шкіру і слизисті оболонки) або повітряно-пиловим шляхом. При природженому токсоплазмозі збудник проникає в плід через плаценту.

Токсоплазми, що проникли в організм, досягають із струмом лімфи регіонарних лімфатичних вузлів, розмножуються і проникають в кров, розносяться по організму, потрапляючи в клітини ретикулоендотеліальної і центральної нервової систем, де утворюють цисти, що зберігаються десятиліттями.

Мікробіологічна діагностика. Основним в діагностиці є серологічний метод. Застосовують РІФ, РПГА, РЗК, а також реакцію Себіна-Фельдмана, або фарбувальний тест, при цьому мерозоїти збудника залежно від властивостей антитіл досліджуваної сироватки крові по-різному забарвлюються метиленовим синім. Використовують алергічний метод - постановку внутрішньошкірної проби з токсоплазміном.

Лікування і профілактика. У лікуванні застосовують хлоридин. Найбільш ефективним є застосування комбінації піриметаміна (дарапріма) з сульфаніламідними препаратами. При вагітності рекомендується замість піриметаміна застосовувати спираміцин, який не проходить через плаценту.

Збудник лямбліозу. Лямбліоз - антропозна інфекційна хвороба, що викликається *Lambliia intestinalis* (*Giardia lamblia*) та характеризується порушенням функції тонкої кишки; часто протікає як безсимптомне носійство. Збудник відноситься до Protozoa, типу Sarcostomigophora, підтипу Mastigophora (джугитиконосії), вперше описаний в 1859 р. російським ученим Д.Ф.Лямблем. Існує у вигляді вегетативної форми і цисти. Вегетативна форма грушоподібна, розміром 9-21×5-12 мкм, рухлива, має чотири пари симетрично розташованих джугитиків.

Джерелом інфекції є хворі люди і здорові носії. Зараження відбувається харчовим або водним шляхами.

Для діагностики проводять мікроскопічне дослідження нативних і забарвлених мазків, отриманих з випорожнень, дуоденального вмісту.

Для лікування застосовують метронідазол, нірідазол, акрихін і ін.

Збудник балантідіазу. Балантідіоз (дизентерія інфузорна) - зоонозна інфекційна хвороба, що характеризується виразковим ураженням товстої

кишки і загальною інтоксикацією. Збудник балантидіазу *Balantidium coli* належить до Protozoa, типу Ciliophora. Паразит має вегетативну і цистну стадії розвитку. Цисти потрапляють в навколишнє середовище з фекаліями і тривало в ньому зберігаються. Зараження цистами відбувається через рот. Вегетативна стадія представлена паразитами овальної форми з віями; на кінці є щільовидний отвір - перистома з ротовим отвором - цитостомом. Паразит поширений широко, проте рідко викликає захворювання. Лікування схоже з лікуванням амебіаза.

Збудники лейшманіозів. Лейшманіози - трансмісивні захворювання людини або тварин, що викликаються лейшманіями і передаються москітами; характеризуються ураженням внутрішніх органів (вісцеральний лейшманіоз) або шкіри і слизових оболонок (шкірний лейшманіоз).

Збудники лейшманіозів *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. donovani* відносяться до Protozoa, типу Sarcomastigophora, підтипу Mastigophora - джгутиконосії.

Лейшманії мають два цикли розвитку: лейшманіальний (безджгутиковий) і лептонадний (джгутиковий). Лейшманіальний цикл відбувається в ретикулоендотеліальних клітинах печінки, селезінки, лімфатичних вузлах і макрофагах інфікованих людей і тварин. Паразити округлої форми (2-5 мкм), без джгутиків, при забарвленні мазків за Романовським-Гімзою цитоплазма має сірувато-блакитний колір, а ядро - червонувато-фіолетовий.

У лептонадному циклі паразити розвиваються в кишечнику москіта. Вони мають джгутик і здібні до пересування. Збудник має подовжену веретеноподібну форму, довжина його 10-20 мкм, поперечник - біля 5 мкм. Протоплазма містить ядро, цитоплазму, блефаропласт і зерна волютина. Джгутик відходить від загостреного кінця.

Епідеміологія. Основними джерелами збудників вісцерального лейшманіозу є інфіковані собаки, а шкірного лейшманіозу - ховрахи, піщанки і інші гризуни. Переносниками збудників є москіти роду *Phlebotomus*. Механізм передачі збудників - трансмісивний, через укуси москітів.

Патогенез і клінічна картина. Розрізняють дві форми збудників шкірного лейшманіозу: *L. tropica minor* - збудник антропонозного шкірного лейшманіозу (міського типу) і *L. tropica major* - збудник зоонозного шкірного лейшманіозу (сільського типу). При антропонозному шкірному лейшманіозі інкубаційний період складає декілька місяців. На місці укусу москіта з'являється горбок, який збільшується і через 3-4 міс покривається виразками. Виразки частіше розташовуються на обличчі і верхніх кінцівках. Джерелами збудника є хвора людина і собаки.

При зоонозному шкірному лейшманіозі інкубаційний період складає 2-4 тиж. Захворювання характеризується гострішим перебігом. Виразки

частіше локалізуються на нижніх кінцівках. Резервуаром лейшманій є піщанки, ховрахи, їжаки. Захворювання поширене в Середній Азії, Середземномор'ї і Закавказзі. *L. braziliensis* викликає шкіряно-слизистий лейшманіоз, що характеризується гранулематозним і виразковим ураженням шкіри носа і слизових оболонок порожнини рота і гортані. Ця форма зустрічається переважно в Південній Америці.

Вісцеральний лейшманіоз (кала-азар, або чорна хвороба) викликається *L. donovani* і зустрічається в країнах тропічного і субтропічного клімату. Інкубаційний період складає 6-8 міс. У хворих збільшуються печінка і селезінка, вражаються кістковий мозок і травний тракт.

Лікування і профілактика. Для лікування вісцерального лейшманіозу застосовують препарати сурми (солосурмін, неостібозан і ін.) і ароматичні діамідини (стильбамідин, пентамідин).

Збудник трипаносомозів. Для людини патогенні *Trypanosoma gambiense* і *Trypanosoma rhodesiense*, що викликають африканський трипаносомоз (сонну хворобу), *Trypanosoma cruzi* - збудник американського трипаносомоза (хвороба Шагаса). Таксономічне положення на рівні вищих таксонов таке ж, як і у лейшманій. Трипаносоми мають довгасте вузьке тіло з джгутиком і ундулюючою мембраною.

Переносником африканського трипаносомоза є мухи цеце, а хвороби Шагаса - триатомові клопи.

Збудник трихомоноза. Трихомоноз - антропонозна інфекційна хвороба, що викликається сечостатевою трихомонадою (*Trichomonas vaginalis*), супроводжується ураженням сечостатевої системи. Передається переважно статевим шляхом.

Збудник відноситься до Protozoa, типу Sarcomastigophora, підтипу Mastigophora - джгутиконосії. Цист не утворює. Має грушовидну форму, розміри - 8-45×2-14 мкм. Чотири джгутики розташовано на передньому кінці клітини. Один джгутик сполучений з клітиною ундулюючою мембраною. У навколишньому середовищі швидко гине. Для постановки діагнозу використовують мікроскопічний метод.

Для лікування застосовують метронідазол, тинідазол, осарсол, амінарсон, фуразолідон і ін.

### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з класифікацією патогенних найпростіших.
2. Вивчити схему життєвих циклів трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

4. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

**Уміти:**

1. Проводити диференціацію різних видів захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

2. Забирати матеріал для дослідження від хворих на інфекцію, викликану трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

3. Тракувати результати мікроскопічного дослідження нативних препаратів.

**Теоретичні питання:**

1. Характеристика і класифікація найпростіших.

2. Структура клітин найпростіших (еукаріотів).

3. Етіологія захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

4. Епідеміологія і патогенез захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

5. Методи мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

6. Лікування і профілактика захворювань, викликаних трипаносомами, лейшманіями, лямбліями, трихомонадами, токсоплазмами.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм (забарвлення за Романовським-Гімзою).

2. Розбір схеми життєвого циклу трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм.

3. Розбір і запис схем діагностики протозойних захворювань, викликаних трипаносомами, токсоплазмами, трихомонадами, лейшманіями, лямбліями.

4. Замальовування демонстраційних мікропрепаратів і схем життєвих циклів патогенних найпростіших в протокол.

5. 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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення класифікації найпростіших, етіології, епідеміології, патогенезу та лабораторної діагностики захворювань, викликаних трихомонадами, трипаносомами, токсоплазмами, лейшманіями, лямбліями. Далі студенти проводять мікроскопію демонстраційних препаратів і замальовують їх в протокол заняття.

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. В жіночій консультації трьом вагітним жінкам була проведена внутрішньошкірна проба з токсоплазміном. Які показники з приведених нижче визначаються за допомогою цієї проби?

- A. Гіперчутливість негайного типу.
- B. Гіперчутливість сповільненого типу.
- C. Імуноглобуліни G до токсоплазм.
- D. Необхідність вакцинації.
- E. Природжений імунітет.

2. У чоловіка 52 років діагностований системний амебіаз з ураженням кишечника, печінки, легенів. Який препарат слід призначити?

- A. Ентеросептол.
- B. Тетрациклін.
- C. Метронідазол.
- D. Хініфон.
- E. Хінгамін.

3. До лікаря-інфекціоніста з хворою дитиною звернулися батьки, які тривалий час працювали в одній азіатській країні. У дитини шкіра землистого кольору, втрата апетиту, млявість, збільшені печінка, селезінка, периферичні лімфатичні вузли. Яке протозойне захворювання можна припустити у дитини?

- A. Токсоплазмоз.
- B. Амебіаз.
- C. Балантідіаз.
- D. Лямбліоз.
- E. Вісцеральний лейшманіоз.

4. При обстеженні хворого лікар зробив припущення, що уретрит у нього пов'язаний із зараженням трихомонадами. Яким методом лабораторних досліджень з перерахованих можна встановити діагноз трихомоніаза?

А. Мікроскопія мікропрепаратів, приготованих з виділень сечостате-  
вих органів.

В. Виділення чистої культури.

С. Серологічний.

Д. Алергічний.

Е. Біологічний.

5. До лікаря звернулися пацієнти зі схожими скаргами: слабкість, болі в кишечнику, розлад ШКТ. Після дослідження фекалій з'ясувалося, що терміновій госпіталізації підлягає один з пацієнтів, у якого виявлені цисти з чотирма ядрами. Для якого найпростішого характерні такі цисти?

А. *Plasmodium malariae*.

В. *Entamoeba coli*.

С. *Toxoplasma gondii*.

Д. *Entamoeba histolytica*.

Е. *Balantidium coli*.

6. У вагітної жінки при мікроскопії мазків крові, забарвлених за Романовським-Гімзою, були виявлені токсоплазми. Які з перерахованих нижче морфологічних ознак в мазках має цей збудник?

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

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

С. Подовжені клітини з 1 джгутиком, 1 ядром і ундулюючою мембраною

Д. Клітини грушовидної форми з 2 ядрами і 4 парами джгутиків

Е. Великі клітини з 1 ядром, псевдоподіями і еритроцитами

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Знайомство з класифікацією найпростіших.

2. Вивчення морфології та життєвого циклу трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм.

3. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм.

4. Замальовування демонстраційних препаратів і схем життєвих циклів трипаносом, лейшманій, лямблій, трихомонад, токсоплазм в протокол.

5. Оформлення протоколу.

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

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 39

**Тема: Методи мікробіологічної діагностики хламідіозів і мікоплазмозів.**

**Мета: Вивчення методів мікробіологічної діагностики, терапії і профілактики захворювань, викликаних хламідіями і мікоплазмами.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 12.** Рикетсії, хламідії, мікоплазми.

**Актуальність теми.** Хламідії, відносяться до облигатних внутрішньоклітинних паразитів, що мають кокоподібну форму, грамнегативні. Хламідії не можуть синтезувати високоенергетичні з'єднання і забезпечувати власні енергетичні потреби, але вони здатні самостійно синтезувати нуклеїнові кислоти, білки і ліпіди, що і дозволило віднести їх до бактерій. Поза клітинами хламідії мають сферичну форму (0,3 мкм), будучи елементарними тільцями. Усередині клітин вони перетворюються на ретикулярні тільця, що діляться, утворюються їх скупчення-включення. У людини хламідії викликають трахому, орнітоз і ін. Добре забарвлюються за Романовським-Гімзою, їх можна виявити і темнопольною мікроскопією незабарвлених препаратів. Поза клітинами господаря метаболічні функції зведені до мінімуму і важкі для виявлення.

За сучасною класифікацією рід включає 3 види: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae*.

Життєвий цикл хламідій складний і включає утворення 2-х основних форм і зазвичай завершується протягом 40-72 годин.

Елементарне тільце (ЕТ) - дрібна (0,15-0,2 мкм) інфекційна позаклітинна форма. Характеризується поліморфізмом, метаболічно мало активне і адаптоване до позаклітинного виживання. ЕТ забезпечує передачу захворювання від людини (тварини) до людини (тварини), здатне адсорбуватися на чутливих епітеліальних клітинах і проникати в них за допомогою ендцитоза.

Ретикулярне тільце (РТ) - репродукційна внутрішньоклітинна форма. Крупніше утворення (до 1 мкм), розвивається через 5-6 годин з ЕТ, що проник в цитоплазму, зазнало структурні зміни і що перетворилося на ініціальне тільце (вегетативна форма). Після утворення РТ хламідійна клітина починає активно бінарно ділитися; тривалість циклу ділення складає 18-24 години. В результаті утворюються тільця - включення у вигляді вакуолей в цитоплазмі, що містять РТ. Зазвичай прилягають до

ядра клітини і їх можна виявити мікроскопією («шапочка» на ядрі). Потім РТ трансформується в проміжне тільце (ПТ), що нагадує бичаче око. ПТ трансформується в ЕТ. Вихід ЕТ супроводжується загибеллю клітини.

Мікоплазми - дрібні бактерії, що оточені мембраною цитоплазми і не мають ригідної клітинної стінки. Вони відносяться до відділу тенеरिकутов, класу Mollicutes («м'якошкірі»). Через відсутність ригідної клітинної стінки мікоплазми осмотично чутливі і мають різноманітну форму: кокоподібну, ниткоподібну, колбоподібну. Ці форми можна розглянути при фазово-контрастній мікроскопії чистих культур мікоплазм. На щільному живильному середовищі мікоплазми утворюють колонії, що нагадують ячню: непрозора центральна частина, занурена в середовище, і периферія, що просвічується, у вигляді круга.

Патогенні мікоплазми викликають хронічні інфекції. *Mycoplasma pneumoniae* є збудником захворювання за типом гострої респіраторної інфекції. Мікоплазми можуть вражати не тільки людей і тварин, але і рослини. Достатньо поширені і непатогенні представники.

Збудники орнітозу. Орнітоз (від грец. орніс - птах) - інфекційна хвороба, що викликається *Chlamydia psittaci*, характеризується інтоксикацією, переважним ураженням легенів. Збудник орнітозу був виділений в 1930 р. від хворих людей, що заразилися від папуг (грец. psittakos - папуга).

Культивування. *C. psittaci* є облигатним, внутрішньоклітинним паразитом, тому його культивують на курячих ембріонах, в організмі лабораторних тварин, культурі клітин.

Епідеміологія. Орнітоз - значно поширена зоонозна інфекція; джерелом інфекції є багато видів домашніх тварин і диких птахів (більш ніж 170 видів). Найбільше епідеміологічне значення мають міські голуби, папуги, індички. Основні шляхи передачі інфекції - повітряно-краплинний і повітряно-пиловий, але можливий і харчовий. Сприйнятливість до орнітозу висока, частіше хворіють люди середнього і старшого віку. Захворювання зустрічається зазвичай восени і весною. Переважають спорадичні випадки, але можливі і спалахи орнітозу.

Патогенез. Вхідними воротами інфекції є верхні дихальні шляхи. Збудник потрапляє в легеневу тканину, де відбувається його розмноження, спостерігається інтоксикація організму. В результаті проникнення збудників в кров вони розносяться по всьому організму в різні органи - печінку, селезінку, надниркові залози, серцевий м'яз, нервову систему.

Клінічна картина. Інкубаційний період продовжується від 6 до 17 днів. Захворювання частіше протікає у вигляді важкої пневмонії. Іноді до патологічного процесу залучаються серцево-судинна система, печінка, селезінка, можливий розвиток серозного менінгіту. Можуть спостерігатися як гострі, так і хронічні форми інфекції.

Мікробіологічна діагностика. Основним методом діагностики є серологічний метод (РЗК, РГГА). Можливе застосування бактеріологічного і алергічного методів.

Лікування. Призначають антибіотики.

Збудник трахоми. Трахома (від греч. *trachys* - нерівний, шорсткий) - хронічне інфекційне захворювання очей, що викликається *Chlamydia trachomatis* та характеризується ураженням рогівки і кон'юнктиви з утворенням фолікулів (трахоматозних зерен), ураження яких приводить до рубцювання.

Епідеміологія. Трахома відома давно; захворювання поширене повсюдно, є ендемічні вогнища; в даний час захворювання носить спорадичний характер. Хворіють тільки люди. Джерело інфекції - хворі і носії. Зараження відбувається контактно-побутовим (прямим або непрямим) шляхом - через руки, предмети ужитку (рушники, одяг і ін.).

Патогенез і клінічна картина. Захворювання пов'язане з ушкоджувальною дією хламідій на епітеліальні клітини кон'юнктиви і рогівки з подальшим розповсюдженням процесу на лежачі більш глибоко тканини.

Інкубаційний період складає 7-14 днів. Вражаються зазвичай обидва ока. На початку захворювання можуть з'являтися відчуття чужорідного тіла і відчуття паління в очах. Можливий і гострий початок: світлобоязнь, слизово-гнійні виділення. Розвиваються кон'юнктивіт і кератокон'юнктивіт, що супроводжуються ураженням і рубцюванням, що може привести до утворення більма і сліпоти.

Мікробіологічна діагностика. Збудник виявляється в цитоплазмі клітин епітелію кон'юнктиви у формі включень - тілець Хальбершtedтера-Провачека. Найбільш простий спосіб виявлення *S. trachomatis* в досліджуваному матеріалі - фарбування зразків розчином Люголя, що виявляє скупчення глікогену. У забарвлених препаратах тільця-включення виглядають як одиночні коричневі округлі тільця, розташовані усередині клітин. Також хламідії можна офарблювати і за Романовським-Гімзою. Виділяють збудники з зіскобів кон'юнктиви шляхом зараження курячого ембріона. Використовують РІФ для виявлення збудника в зіскобах кон'юнктиви або антитіл в сироватці хворого.

Лікування і профілактика. Найбільш ефективний тетрациклін у вигляді мазей, рифампіцин і сульфаніламиди. Специфічна профілактика відсутня. Неспецифічна профілактика полягає в проведенні освітньої роботи, контролі за дотриманням гігієнічних вимог в сімейних вогнищах.

Урогенітальний хламідіоз. Урогенітальний хламідіоз - широко поширене захворювання сечостатевого тракту, що викликається певними сероварами *S. trachomatis*.

Епідеміологія. Антропонозна інфекція. Джерело - хворі люди, головним чином жінки, з малосимптомним перебігом хвороби. Передача інфекції відбувається статевим шляхом, але можливий і контактнo-побутовий шлях (при купанні в басейні хламідії проникають в кон'юнктиву). Хламідії можуть інфікувати плід під час вагітності хворої матері.

Клінічна картина. Тривалість інкубаційного періоду 7-14 днів. З'являються виділення, свербіння, гіперемія слизових оболонок. Захворювання часто переходить в хронічну форму.

Мікробіологічна діагностика. Методи дослідження: культуральний (на культурі клітин), серологічний (ІФА, РПГА, РЗК з парними сироватками). Найчастіше застосовують РІФ і ІФА для виявлення хламідійного антигена у виділеннях зі слизових оболонок.

При кон'юнктивіті застосовують мікроскопію зіскоба кон'юнктиви для виявлення внутрішньоклітинних включень - тілець Провачека-Хальберштедтера.

Лікування. Антибіотики широкого спектру дії.

Венерична лімфогранульома. Венерична лімфогранульома (ВЛГ) - захворювання статевих органів і регіонарних лімфатичних вузлів, що викликається *S. trachomatis* сероварів L<sub>1</sub> і L<sub>2</sub>, тобто збудник ВЛГ відрізняється від інших хламідій тільки за антигенними властивостями.

Епідеміологія. Джерело інфекції - хвора людина. Зараження відбувається переважно статевим шляхом, рідше через предмети ужитку. Зустрічається в країнах з жарким і вологим кліматом, відрізняється високою контагіозністю.

Патогенез і клінічна картина. Вхідні ворота - слизова оболонка статевих органів. Інкубаційний період - до 30 днів. На статевих органах з'являються папули, виразки. Збільшуються регіонарні лімфатичні вузли.

Лікування - антибіотики.

Збудник мікоплазмозу. Мікоплазмоз - інфекційна хвороба, що викликається *Mycoplasma pneumoniae*. Збудник вперше виділений в 1944 р. М. Ітоном і віднесений до вірусів, тільки в 1962 р. ідентифікований як мікоплазма.

Збудник відноситься до відділу Tenericutes, сімейства Mycoplasmataceae, роду *Mycoplasma*; *M. pneumoniae* - єдиний вид цього роду, патогенність якого для людини доведена.

Мікоплазми є дрібними сферичними і ниткоподібними клітинами. У них відсутня ригідна клітинна оболонка, замість якої вони покриті тришаровою мембраною. Завдяки цьому мікоплазми можуть міняти форму і навіть проходити через бактерійні фільтри. Мікоплазми резистентні до Пеніциліну, але тетрациклін і еритроміцин пригнічують їх зростання. Культивуються на сироватковому агарі з додаванням ацетату талія для приг-

нічення сторонньої флори (при первинному посіві матеріалу від хворого на щільному середовищі через 1-2 тиж зростають дрібні колонії з втягнутим в середу центром, що нагадують яєчно)

Джерелом інфекції є людина, хвора на пневмонію, або носій. Захворювання розповсюджується повітряно-краплинним шляхом. Матеріалом для дослідження може служити мокрота і носоглотковий слиз. Діагноз може бути також підтверджений серологічними методами (РЗК, РІФ, РПГА).

Етіотропне лікування здійснюється антибіотиками (еритроміцин і тетрациклін). Специфічна профілактика не розроблена.

Збудник негонококових уретритів. *Ureaplasma urealyticum* раніше відносилась до роду *Mycoplasma*.

Морфологія. В даний час виділяють 3 основних типи: дрібні (120-150 нм) з гомогенною цитоплазмою, що включає значну кількість рибосом; середні (500-750 нм), такі, що характеризуються периферичним розташуванням рибосом; великі з негомогенною цитоплазмою і вираженим генофором.

Культуральні властивості. Особливість уреаплазм - здатність до швидкого зростання в оптимальних умовах. Температурний оптимум 37 °С, при незначному залужуванні середовища клітини швидко гинуть. Факультативні анаероби. Для культивування використовують середовища, що містять гідролізат бичачого серця, гідролізат казеїну і ін. Середовища доповнюють внесенням 10 % кінської сироватки. Розмноження збудника в рідких середовищах приводить до зміни забарвлення середовища з лимонно-жовтого на синє. Життєздатність клітин в рідких культурах не перевищує 3-5 діб. Для культивування використовують серцево-мозковий агар, середовище Клодницького, сироватковий бульйон і культуру клітин.

Епідеміологія. Результати численних досліджень, направлених на виявлення *Ureaplasma urealyticum* у хворих і клінічно здорових, показують на інфікованість 25-80 % осіб, ведучих активне статеве життя і що мають 3-х і більше партнерів. Шлях передачі - статевий. Основний резервуар - хворі особи.

Лабораторна діагностика. Основний метод діагностики уреаплазмозів - метод визначення уреазної активності (утворення аміаку з сечовини). З серологічних методів використовують РЗК і РПГА з сироваткою крові хворого.

Лікування. Тетрациклін, макроліди і фторхінолони.

#### **Конкретні цілі:**

1. Вивчити цикл розвитку хламідій.
2. Вивчити морфологічну характеристику всіх форм хламідій.
3. Вивчити морфологію мікоплазм.
4. Вивчити методи мікробіологічної діагностики.

5. Тракувати результати мікроскопічного дослідження.
6. Ознайомитися з методами профілактики і специфічної терапії.

#### **Уміти:**

1. Диференціювати заражені хламідіями клітини від здорових в мікроскопічних препаратах.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих.
3. Тракувати результати мікроскопічного дослідження.

#### **Теоретичні питання:**

Збудники: властивості, резистентність, патогенність для людини і тварин, фактори патогенності, токсини, патогенез захворювання у людей, імунітет, мікробіологічна діагностика, специфічна профілактика і лікування.

#### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
2. Вивчення колекції живильних середовищ для вирощування культури клітин.
3. Вивчити будову курячого ембріона і опанувати техніку його зараження.
4. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
5. Розбір схем лабораторної діагностики.
6. Оформлення протоколу.

#### **Література:**

1. 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.

#### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.

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

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. В інфекційне відділення був доставлений хворий з високою температурою, явищами інтоксикації і тривалим сухим кашлем. З анамнезу стало відомо, що хворіє не більше 5 днів. Лікар запідозрив пневмонію, ви-

кликану *M. pneumoniae*. Який метод лабораторної діагностики допоможе підтвердити припущення лікаря?

- A. РЗК з сироваткою крові;
- B. РА з сироваткою крові;
- C. Світлова мікроскопія мазка з матеріалу, узятото у хворого;
- D. РІФ
- E. Все вищеперелічене

2. У інфекційне відділення був доставлений чоловік 42 років, працівник зоопарку, що доглядає за папугами. Клінічно у хворого спостерігалася висока температура, головний біль, міалгії. При огляді лікар виявив гіперемію обличчя з ін'єкцією кон'юнктиви і склер. Лікар запідозрив орнітоз. Який найбільш вірогідний шлях передачі даного захворювання?

- A. Контактний
- B. Аерогенний
- C. Трансмсивний
- D. Аліментарний
- E. Все вищеперелічене

3. У хворого на простатит були виділені *C. trachomatis*. У яких з приведених нижче тест-системах культивується цей збудник?

- A. На кров'яному агарі
- B. У культурах тканин
- C. На середовищі 199
- D. На згорнутій сироватці
- E. На сироватковому агарі

4. У відділенні лікарні відмічений спалах вогнищевої пневмонії. У зв'язку з тим, що збудником захворювання могла бути *M. pneumoniae*, яка з приведених нижче серологічних реакцій може застосовуватися для підтвердження цього діагнозу?

- A. РА;
- B. РП;
- C. РПГА;
- D. РГА;
- E. РГГА

5. У шкіряно-венерологічний диспансер звернувся чоловік, якому на підставі клінічної картини і лабораторних досліджень був поставлений діагноз негонококовий уретрит. Який мікроорганізм найімовірніше є збудником даного захворювання?

- A. *Ureaplasma urealyticum*
- B. *S. aureus*
- C. *C. psittaci*
- D. *C. trachomatis*
- E. *Trichomonas vaginalis*

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Вивчення схеми виділення чистої культури.
2. Мікроскопія готових мазків.
4. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
5. Зарисовка препаратів в протокол.
6. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.
7. Оформлення протоколу.
8. Тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 40

**Тема:** Мікробіологічна діагностика рикетсіозів.

**Мета:** Вивчення методів лабораторної діагностики рикетсіозів.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 12.** Патогенні прокаріоти і еукаріоти.

**Тема 12.** Рикетсії, хламідії, мікоплазми.

**Актуальність теми.** Захворювання, що викликаються рикетсіями, називаються рикетсіозами, вони поширені у всіх країнах світу. До недавнього часу сімейство рикетсій включало роди *Rickettsia*, *Orientia*, *Ehrlichia*, *Coxiella*. За сучасною класифікацією сімейство *Rickettsiaceae* включає два роди: *Rickettsia*, *Orientia*. Рід *Coxiella* виключений з сімейства *Rickettsiaceae* і віднесений до порядку *Legionellales*.

Епідемічний висипний тиф - гостра інфекційна хвороба, викликається *Rickettsia prowazekii*, яка має форму коків і паличкоподібних клітин, забарвлюється за методом Здродовського.

Рикетсії Провачека - внутрішньоклітинні паразити. Їх культивують в жовтковому мішку курячого ембріона, в культурі клітин, в кишечнику платтяних вошів.

Рикетсії Провачека містять два антигени. Один з них поверхневий, термостабільний розчинний, не є видоспецифічним. Другий антиген - термолабільний, видоспецифічен. Рикетсії Провачека утворюють токсин, тісно пов'язаний з тілом клітини. Є припущення, що він є білком, оскільки термолабілен. До *R. prowazekii* сприйнятливі морські свинки, білі миші.

Джерелом інфекції при епідемічному висипному тифі є тільки хвора людина, а передається захворювання через платтяну і головну вошу. Останні, після харчування кров'ю хворого на висипний тиф, стають заразливими через 5-6 днів. Заражена воша з фекаліями виділяє велику кількість рикетсій, які через пошкоджену при розчісах шкіру потрапляють в кров. Рикетсії адсорбуються на поверхні епітелію судин, проникають всередину клітин і розмножуються в цитоплазмі. Потім клітини руйнуються, рикетсії потрапляють в потік крові і вражають нові клітини. Інкубаційний період при висипному тифі рівний 12-14 днів.

Рикетсії виявляються в організмі хворого протягом всього гарячкового періоду. Хвороба характеризується високою температурою, інтоксикацією, ураженням нервової і серцево-судинної системи, на шкірі з'являється роzeольозно-петехіальний сип.

Матеріалом для дослідження є кров. Використовують серологічні реакції: РЗК, РА Вейгля з рикетсіями Провачека, РНГА для виявлення анти-тіл.

Після перенесеного захворювання формується стійкий тривалий анти-мікробний і антитоксичний імунітет. Під час гострої рикетсіозної інфекції характерне утворення IgM, а в період реконвалесценції виявляються в основному IgG.

У частини тих, що перехворіли на висипний тиф спостерігається тривале носійство рикетсій з можливим подальшим рецидивом і виникненням повторного висипного тифу або хвороби Брілля-Цінссера. При хворобі Брілля в крові хворого визначаються Ig G, що допомагає диференціювати епідемічний висипний тиф від хвороби Брілля. З цією метою сироватки заздалегідь обробляють 2-меркаптоетанолом, який руйнує дисульфідні зв'язки IgM.

Для профілактики висипного тифу застосовують живу комбіновану висипнотифозну вакцину, хімічну висипнотифозну вакцину з антигенів клітинної стінки рикетсій.

Лікування проводиться антибіотиками тетрациклінового ряду, левоміцетином.

Разом з епідемічним висипним тифом зустрічається ендемічний висипний тиф, збудником якого є *Rickettsia typhi*. За своїми біологічними властивостями вона багато в чому схожа з рикетсіями Провачека.

Ендемічний висипний тиф поширений серед диких гризунів - щурів, мишей. Щурячі блохи нападають на людину і заражають її. Людина заражається при втиранні в шкіру фекалій бліх, шляхом вживання харчових продуктів, забруднених сечею гризунів.

Патогенез ендемічного висипного тифу схожий з патогенезом епідемічного висипного тифу. Лабораторна діагностика має велике значення для диференціації з епідемічним висипним тифом і хворобою Брілля. Використовуються серологічні реакції (РЗК, РА) зі специфічними антигенами. У складних випадках удаються до зараження самців морських свинок, у яких збудник ендемічного висипного тифу разом з лихоманкою викликає розвиток періорхита (скротальний феномен). Збудник епідемічного висипного тифу викликає тільки лихоманку, без виникнення орхиту.

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з біологічними особливостями і класифікацією рикетсій.
2. Вивчити методи лабораторної діагностики епідемічного і ендемічного висипного тифу.
3. Знати класифікацію рикетсіозів.

4. Вивчити біологічні препарати для діагностики і профілактики епідемічного висипного тифу.

5. Уміти трактувати результати лабораторних досліджень, які проводяться для діагностики висипних тифів – епідемічного і ендемічного.

**Уміти:**

1. Мікроскопіювати готові мікропрепарати і знаходити в них рикетсії.
2. Знати, який матеріал для досліджень брати від хворих на рикетсіоз.
3. Ставити серологічні реакції для діагностики висипного тифу.
4. Трактувати результати серологічних досліджень.

**Теоретичні питання:**

1. Таксономія *R. prowazekii*, класифікація рикетсіозів.
2. Морфологія і методи забарвлення *R. prowazekii*.
3. Джерело інфекції і шляхи передачі збудника епідемічного висипного тифу. Механізм передачі інфекції.
4. Методи лабораторної діагностики епідемічного висипного тифу.
5. Хвороба Брілля. Диференціація від епідемічного висипного тифу.
6. Джерело інфекції, шляхи передачі ендемічного висипного тифу.
7. Диференціація епідемічного і ендемічного висипного тифу.

**Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів з матеріалу, що містить рикетсії, забарвлених за Здродовським і Романовським-Гімзою.
2. Облік готової реакції аглютинації Вейгля. Трактування результатів дослідження.
3. Вивчення діагностикумів для діагностики і вакцин для профілактики рикетсіозів.
4. Вивчення методу культивування рикетсій в кишечнику воші за фотографіями.
5. Вивчення схеми лабораторної діагностики епідемічного висипного тифу.
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. – 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. – Харьков, 2005. – 28 с.

### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті:**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів лабораторної діагностики епідемічного висипного тифу. Ставиться акцент на основному методі діагностики - серологічному. Далі студенти мікроскопують готові мікропрепарати з рикетсій, забарвлені за Здродовським, за фотографіями вивчають методи культивування рикетсій в кишкового воші. Студенти отримують готові демонстраційні штативи з реакцією Вейгля, проводять її облік, трактують результати і роблять висновки. Потім студенти вивчають біологічні препарати: діагностикуми для серологічних реакцій, вакцини для профілактики епідемічного висипного тифу.

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

### **Цільові навчальні завдання**

1. До лікаря звернувся громадянин з табору для біженців зі скаргами на головний біль і високу температуру. При огляді лікар виявив у нього сип на шкірі і запідозрив висипний тиф. Який матеріал для дослідження слід брати від хворого з підозрою на епідемічний висипний тиф?

- A. Сечу      В. Кров      С. Фекалії  
D. Слиз із носа      Е. Плевральну рідину

2. Які симптоми є класичними для клінічної картини епідемічного висипного тифу?

- A. Головний біль      В. Лихоманка      С. Васкуліт  
D. Висипання      Е. Всі перераховані

3. Який переносник забезпечує проникнення *R. prowazekii* в організм людини?

- A. Головна і платяна воша      В. Щурячі блохи  
C. Іксодові кліщі      D. Комари      Е. Кліщі - краснотелки

4. До лікаря звернувся хворий 70 років з скаргами на високу температуру, головний біль, сип на тілі. У анамнезі - перенесений епідемічний висипний тиф. Лікар припустив, що це хвороба Брілля-Цінссера. Визначення якого класу імуноглобулінів допомагає диференціювати хворобу Брілля-Цінссера від епідемічного висипного тифу?

- A. IgG      В. IgM      С. IgA      D. IgE      Е. IgD

5. Який з перерахованих збудників викликає ендемічний висипний тиф?

- A. *Rickettsia prowazekii*
- B. *Rickettsia conori*
- C. *Rickettsia typhi*
- D. *Rickettsia burnetti*
- E. *Rickettsia akari*

6. Основу сучасної лабораторної діагностики рикетсіозів складають серологічні дослідження. Яка з перерахованих реакцій використовується для серодіагностики епідемічного висипного тифу?

- A. Реакція Вейгля
- B. Реакція Відаля
- C. Реакція Райта
- D. Реакція Хеддельсона
- E. Реакція Вассермана

7. Разом з епідемічним висипним тифом реєструється спорадичний висипний тиф - хвороба Брілля-Цінссера. Яка це форма інфекції?

- A. Суперінфекція
- B. Реінфекція
- C. Рецидив
- D. Змішана інфекція
- E. Екзогенна інфекція

8. Який препарат найбільш ефективний при лікуванні висипного тифу?

- A. Пеніцилін
- B. Сульфаніламід
- C. Тетрациклін
- D. Стрептоміцин
- E. Ністатин

**Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Мікроскопія мікропрепаратів з матеріалу, що містить рикетсії, забарвлених за Здродовським і Романовським-Гімзою.

2. Облік готової реакції аглютинації Вейгля. Трактування результатів дослідження.

3. Вивчення діагностикумів для діагностики і вакцин для профілактики рикетсіозів.

4. Вивчення методу культивування рикетсій в кишечнику воші за фотграфією.

5. Вивчення схеми лабораторної діагностики епідемічного висипного тифу.

6. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.

7. Замальовування препаратів в протокол.

8. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.

9. Оформлення протоколу.

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

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 41

**Тема: Санітарна мікробіологія.**

**Частина 1. Санітарно-мікробіологічне дослідження води.**

**Мета: Освоєння практичних навиків визначення санітарних показників води.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 14.** Санітарна мікробіологія і вірусологія.

**Тема 25.** Основи санітарної мікробіології. Санітарна мікробіологія води, ґрунту і повітря.

**Актуальність теми.** Санітарна мікробіологія - розділ медичної мікробіології, що вивчає мікроорганізми, які містяться в навколишньому середовищі і здатні надавати несприятливу дію на стан здоров'я людини. Вона розробляє мікробіологічні показники гігієнічного нормування, методи контролю за ефективністю знезараження об'єктів навколишнього середовища, а також виявляє в об'єктах навколишнього середовища патогенні, умовно-патогенні і санітарно-показові мікроорганізми. Виявлення патогенних мікроорганізмів дозволяє дати оцінку епідеміологічної ситуації і прийняти відповідні заходи з боротьби і профілактики інфекційних захворювань. Умовно-патогенні мікроорганізми здатні викликати гнійно-запальні процеси в ослабленому організмі. Крім того, вони можуть потрапляти в продукти харчування, швидко розмножуватися з накопиченням великої кількості мікробних клітин і їх токсинів, викликаючи у людей харчові отруєння мікробної етіології. Санітарно-показові мікроорганізми (СПМ) використовують для непрямого визначення можливої присутності в об'єктах навколишнього середовища патогенних мікроорганізмів. Їх наявність свідчить про забруднення об'єкту виділеннями людини і тварин.

СПМ повинні відповідати наступним вимогам:

- 1) повинні мешкати тільки в організмі людей і тварин і виявлятися в їх виділеннях;
- 2) не повинні розмножуватися або мешкати в ґрунті і воді;
- 3) терміни їх виживання і стійкість до різних факторів після виділення з організму в навколишнє середовище повинні бути рівними або перевищувати такі у патогенних мікроорганізмів;
- 4) їх властивості повинні бути типовими і такими, що легко виявляються для їх диференціації;
- 5) методи їх виявлення і ідентифікації повинні бути простими, економічно доступними;

б) у навколишньому середовищі не повинно бути схожих мешканців - мікроорганізмів.

Основними завданнями санітарної мікробіології є:

1. Розробка і вдосконалення мікробіологічних методів дослідження об'єктів навколишнього середовища (води, повітря, ґрунту, харчових продуктів, предметів ужитку);

2. Вивчення джерел забруднення навколишнього середовища різноманітною мікрофлорою, що представляє небезпеку для людини;

3. Вивчення життєдіяльності мікрофлори в навколишньому середовищі, особливо в умовах її хімічного і біологічного забруднення;

4. Розробка нормативів для гігієнічної оцінки об'єктів навколишнього середовища, в т.ч. харчових продуктів;

5. Розробка заходів щодо оздоровлення об'єктів навколишнього середовища і контроль за ефективністю цих заходів, включаючи контроль за якістю водопостачання, роботою підприємств харчової промисловості і громадського харчування, ефективністю знезараження стічних вод, викидів і т.д.

Забрудненість ґрунту, води, повітря і інших об'єктів визначається по загальному мікробному числу і виявленню СПМ - індикаторів наявності виділень людини або тварин. У воді реєструють кишкову паличку, бактерії групи кишкової палички (БГКП) (коліформні палички), ентерокок, стафілокок; у ґрунті - кишкову паличку, БГКП, клостридії перфрінгенс, термофіли; на предметах ужитку - БГКП, золотистий стафілокок, ентерокок.

Вода - природне місце існування для різноманітних мікроорганізмів. У воді річок, відкритих водоймищ, морів, океанів виявляють представників усіх таксономічних груп бактерій, а також гриби, водорості і найпростіші. Сукупність всіх мікроорганізмів, що заселяють водоймища, позначають терміном "мікробіологічний планктон".

Мікрофлора водоймища залежить від речовин, що містяться в ній, і від біоценоза, тобто від видового складу і чисельності інших живих істот. Так, фаги, що знаходяться у воді, та найпростіші знищують бактерії. Мікроорганізми, здатні утворювати антибіотики, викликають загибель інших бактерій, чутливих до цих речовин.

При визначенні мікробного забруднення води розраховують колі-титр і колі-індекс. Колі-титр води вимірюється мінімальною кількістю води (мл), в якій виявляються БГКП, колі-індекс - кількістю БГКП, що містяться в 1 л досліджуваної води. Ці показники визначають титраційним (бродильним) методом або методом мембранних фільтрів. При титраційному методі проводять виділення і ідентифікацію бактерій на живильних середовищах. При методі мембранних фільтрів воду спочатку фільтрують,

використовуючи колбу Бунзена з вмонтованою в неї воронкою Зейтца з мембранним фільтром: за допомогою вакууму проганяють воду через фільтри, які потім поміщають на поверхню живильного середовища в чашки Петрі. Після інкубації в термостаті підраховують кількість колоній, що виростили, типових для БГКП, а потім за допомогою біохімічних тестів проводять їх ідентифікацію.

Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води.

Санітарно-мікробіологічне дослідження питної води включає визначення загального мікробного числа (ЗМЧ), кількості ентеробактерій, спор сульфітредуруючих клостридій і коліфагів.

Визначення ЗМЧ при оцінці якості питної води. Загальне мікробне число - кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних бактерій в 1 см<sup>3</sup> (1 мл) води - визначають для всіх видів води. Досліджувану воду вносять по 1 мл в дві стерильні чашки Петрі і заливають розплавленим і остигшим живильним агаром (метод глибинного посіву). Інкують при 37 °С 24 год, після чого при кімнатній температурі ще 24 год. Підраховують на 2-х чашках число колоній (на поверхні і в глибині живильного агару), що виростили, і розраховують середнє арифметичне значення. Для виявлення цвілевих і дріжджових грибів досліджувану воду засівають по 0,5 мл на середовище Сабуро і інкують при кімнатній температурі протягом 3-4 діб. Підраховують число колоній, що виростили, і також розраховують середнє арифметичне. Результат (ЗМЧ) обчислюють шляхом підсумовування середнього арифметичного числа бактерій, дріжджових і цвілевих грибів і виражають в колонієутворюючих одиницях (КУО/мл).

ЗМЧ дозволяє оцінити рівень мікробного забруднення води, доповнюючи показники фекального забруднення, і одночасно дозволяє виявити забруднення з інших джерел (наприклад, промислові скидання). Несподіване збільшення ЗМЧ (навіть в межах нормативу), виявлене повторно, служить сигналом для пошуку причини забруднення. Також цей показник незамінний для термінового виявлення в питній воді масивного мікробного забруднення невідомої природи.

Визначення кількості ентеробактерій. Присутність ентеробактерій (коліформних бактерій) також визначають у всіх видах води. Поняття коліформні бактерії включає бактерії сімейства *Enterobacteriaceae* і термотолерантні коліформні бактерії.

До бактерій групи кишкової палички (БГКП) відносяться грамнегативні палички, що не утворюють спору, ферментують лактозу з утворенням кислоти і газу при 37±0,5 °С протягом 24 - 48 годин або ферментують глюкозу з утворенням кислоти і газу при 37±0,5 °С протягом 24 годин, і що не володіють оксидазною активністю. Виявлення в питній воді бакте-

рій сімейства Enterobacteriaceae указує на потенційну епідемічну небезпеку водокористування. Показник «бактерії сімейства Enterobacteriaceae» - основний нормований показник, забезпечуючий найбільш надійний контроль присутності у воді практично всіх представників кишкових бактерій.

Термотолерантні коліформні бактерії володіють тими ж характеристиками, але додатково зброджують лактозу з утворенням кислоти і газу при 44,5 °C через 24 год. Термотолерантні коліформні бактерії швидко відмирають у зовнішньому середовищі, тому їх виявлення свідчить про свіже фекальне забруднення води.

Виявлення у воді БГКП слід розглядати як показник фекального забруднення води, а їх кількість дозволяє судити про ступінь цього забруднення.

Кількість БГКП визначають двома методами:

1. Бродильний метод. Суть методу полягає в посіві певних об'ємів аналізованої води і підрощуванні при 37 °C в середовищах накопичення (глюкозо-пептонне середовище (ГПС) Ейкмана або середовище Кесслера (лактозо-пептонна вода з жовчю і генціанвіолетом для пригнічення росту грампозитивних бактерій)) з подальшим висівом бактерій на середовище Ендо, диференціюванням бактерій, що вирости, і визначенням найбільш вірогідного числа БГКП в 1 л води (колі-індекс). При виявленні бактерійного забруднення води вище допустимих норм повинен проводитися повторний відбір проб з додатковим дослідженням на наявність бактерійпоказників свіжого фекального забруднення. Свіже фекальне забруднення у воді встановлюють, визначаючи наявність грамнегативних термотолерантних коліформних бактерій, фекальних кишкових паличок, ферментуючих лактозу до кислоти і газу при температурі 43- 44 °C протягом 24 годин у присутності інгібіторів сторонньої мікрофлори (0,32 % борної кислоти) і що не ростуть на цитратному середовищі Симонса або Козера. Про свіже фекальне забруднення свідчить також виявлення ентерокока. На давнє фекальне забруднення указує відсутність БГКП і наявність певної кількості клостридії перфрінгенс, тобто найбільш стійких спороутворюючих бактерій.

Відповідно до нормативних документів (Державних стандартів) регламентуються наступні показники питної води при централізованому водопостачанні:

- Загальне мікробне число води (кількість всіх мікроорганізмів, що виявляються в 1 мл води) - не повинно перевищувати 100 мікробів в 1 мл досліджуваної води;
- Колі-титр води (найменший об'єм води, в якому виявляються БГКП) - не менше 300 мл;
- Колі-індекс (кількість БГКП в 1 л води) - не більше 3;

- Загальні колиформні бактерії, термотолерантні колиформні бактерії, колифаги, кишкова паличка - повинні бути відсутніми в 100 мл досліджуваної води.

2. Метод мембранних фільтрів. Для цього методу застосовують мембранні ультрафільтри з нітроцелюлози, не проникні для кишкової палички. Фільтри стерилізують шляхом кип'ячення, потім закладають у воронку фільтру Зейтца, вмонтовану в колбу, сполучену з насосом Камовського. Через фільтр пропускають певний об'єм води (1 л), потім виймають фільтр і поміщають його в чашку з середовищем Ендо так, щоб він прилягав до середовища нижньою стороною. Чашку поміщають в термостат при  $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  на добу. Так, наприклад, якщо на фільтрі спостерігається зростання двох колоній *E. coli*, то колі-титр буде рівний 500, а колі-індекс - 2.

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з методами і об'єктами вивчення санітарної мікробіології води.

2. Навчитися трактувати методи і способи забору проб води для визначення СПМ.

3. Вивчити основні СПМ води.

4. Навчитися аналізувати і оцінювати колі-титр і колі-індекс досліджуваної води.

#### **Уміти:**

1. Пояснити правила забору проб води.

2. Відібрати проби води, визначити БГКП титраційним методом і методом мембранних фільтрів.

#### **Теоретичні питання:**

1. Предмет, методи і об'єкти вивчення санітарної мікробіології.

2. Вода як місце існування і збереження мікроорганізмів. Автохтонна і алохтонна мікрофлора відкритих водоймищ.

3. Які методи використовуються для санітарно-мікробіологічного дослідження води?

4. Які санітарно-показові мікроорганізми використовуються при оцінці якості питної води?

5. Які вимоги СанПіНа (санітарних правил і нормативів) до питної води?

#### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Для посіву водопровідної води необхідно спустити воду (10 хв), обпалити кран факелом і набрати 500 мл води в стерильну пляшку.

2. Посів зробити на 3 % середовище Ейкмана, посіви помістити в термостат на 24 год при температурі  $43\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

3. Для посіву водопровідної води на мікробне число перенести стерильною піпеткою 1 мл водопровідної води з пляшки в чашку Петрі. Ви-

лити в чашку 15 мл розтопленого і остиглого МПА (до 45 °С), обережно перемішати, промаркірувати і поставити чашку в термостат на 24 год.

4. Визначити мікробне число водопровідної води на демонстраційній чашці.

5. Оцінити чистоту води по мікробному числу.

6. Визначити колі-індекс і колі-титр води.

7. Оформити протокол.

#### **Література:**

1. 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.

#### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів відбору проб водопровідної води, визначення мікробного числа води. Студенти засівають водопровідну воду на чашки Петрі з живильним середовищем для визначення загального мікробного числа і на чашки з середовищем Ейкмана для визначення БГКП і ставлять чашки в термостат. Потім студенти визначають і оцінюють загальне мікробне число води по демонстраційній чашці.

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

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. Вкажіть, за якою ознакою визначають *E. coli*, як показник фекального забруднення?

А. Відсутність росту на ацетатному середовищі.

В. Відсутність ферментації сахарози.

С. Ферментація лактози при 43-44 °С.

Д. Ферментація лактози при 37 °С.

Е. Ферментація сахарози при 43 °С.

2. Вкажіть живильне середовище і температурний режим для визначення ФКП (фекальних кишкових паличек):

А. МПБ з борною кислотою при 37 °С.

В. Лактозо - пептонне середовище з борною кислотою при 37 °С.

- С. Лактозо - пептонне середовище з борною кислотою при  $43\pm 0,5$  °С.
- Д. Глюкозо - пептонне середовище з борною кислотою при  $37\pm 1,5$  °С.
- Е. Мальтозо- пептонне середовище з борною кислотою при 43 °С.

3. Які характеристики питної водопровідної води відповідають вимогам СанПіНа?

- А. Колі - індекс - 20, колі - титр - 50.
- В. Колі - індекс - 100, колі - титр - 10
- С. Колі - індекс - 3, колі - титр - 300
- Д. Колі - індекс - 10, колі - титр - 100
- Е. Колі - індекс - 20, колі - титр - 500

4. Вкажіть вимоги, які пред'являються до водопровідної води:

- А. Колі - титр - 300, колі - індекс - 3, мікробне число - не більше 100.
- В. Колі - титр - 100, колі - індекс - 3, мікробне число - не більше 10.
- С. Колі - титр - 3, колі - індекс - 300, мікробне число - не більше 100.
- Д. Колі - титр - 30, колі - індекс - 1, мікробне число - не більше 10.
- Е. Колі - титр - 100, колі - індекс - 3, мікробне число - не більше 300.

5. Санітарно-бактеріологічне дослідження води складається з визначення:

- А. ЗМЧ в 1мл води, колі-титра, колі-індекса.
- В. БГКП, *Micrococcus*.
- С. *E. coli*, колі-титра, *Aeromonas*.
- Д. *Micrococcus*, колі-індекса.
- Е. *Vibrio*, ЗМЧ.

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Ознайомлення з санітарно-показовими мікроорганізмами води і методами їх визначення.
2. Ознайомлення з проведенням мікробіологічного контролю води титраційним методом і методом мембранних фільтрів.
3. Визначення мікробного числа водопровідної води (з використанням демонстраційних чашок).
5. Аналіз отриманих результатів.
6. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 42

**Тема: Санітарна мікробіологія.**

**Частина 2. Санітарно-мікробіологічне дослідження повітря.**

**Мета: Освоєння практичних навичок визначення санітарних показників повітря.**

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 14.** Санітарна мікробіологія і вірусологія.

**Тема 25.** Основи санітарної мікробіології. Санітарна мікробіологія води, ґрунту і повітря.

**Актуальність теми.** Основне завдання санітарно-бактеріологічного дослідження повітря - гігієнічна і епідеміологічна оцінка повітряного середовища, а також розробка комплексу заходів, направлених на профілактику аерогенної передачі збудників інфекційних хвороб. При оцінці санітарного стану закритих приміщень залежно від завдань дослідження визначають ЗМЧ, наявність СПМ (стафілококів, альфа- і бета-гемолітичних стрептококів, що є показниками контамінації мікрофлорою носоглотки людини).

Мікрофлора повітря закритих приміщень одноманітніша, порівняно з мікрофлорою атмосферного повітря, і відносно стабільніша. Серед мікроорганізмів домінують мешканці носоглотки людини, зокрема патогенні види, що потрапляють в повітря при кашлі, чханні або розмові. Основне джерело забруднення повітря патогенними видами - бактеріоносії. Рівень мікробного забруднення залежить головним чином від щільності заселення, активності руху людей, санітарного стану приміщення, зокрема пилової забрудненості, вентиляції, частоти провітрювання, способу прибирання, ступеня освітленості і інших умов. Самоочищення повітря закритих приміщень не відбувається.

Умови циркуляції мікроорганізмів в повітрі. Контамінація повітря патогенними мікроорганізмами відбувається в основному краплинним шляхом у складі аерозоля, що утворюється при розмові, кашлі, чханні. Рідше мікроби потрапляють в повітря з епітелієм шкірних покривів, що злущується, з пилом забрудненої постільної білизни і зараженого ґрунту. Аерозоль є колоїдною системою, що складається з повітря, крапельок рідини або твердих частинок, що включають різні мікроорганізми. Розмір аерозольних частинок може бути різним (від 10-100 до 2000 нм). При чханні може утворюватися до 40 000 крапель. Залежно від розміру крапель, їх електричного заряду, швидкості руху в повітрі виділяють три основні фази бактерійного забруднення.

Краплинна, або крупноядерна фаза складається з бактерійних клітин, оточених водно-сольовою оболонкою. Діаметр частинок близько 0,1 мм і більше. Частинки осідають досить швидко: тривалість перебування в повітрі складає декілька секунд, а швидкість переміщення - в середньому 30 см/с.

Дрібноядерна фаза утворюється при висиханні частинок і складається з бактерійних клітин, що зберегли тільки хімічно зв'язану воду на своїй поверхні і вільну воду усередині клітин. У цій фазі частинки мають найменші розміри, легко переміщуються потоками повітря, тривалий час знаходяться в ньому в зваженому стані. Це найбільш стійка фаза, оскільки діаметр більшості частинок не перевищує 0,05 мм, а швидкість осідання частинок складає в середньому 0,013 см/с. При цьому швидкість їх пересування перевищує 30 см/с, тому вони можуть розсіюватися на великій відстані. Ця фаза представляє найбільшу епідеміологічну небезпеку, оскільки в її складі розповсюджуються більшість збудників повітряно-краплинних інфекцій, особливо малостійких до зовнішніх факторів (наприклад, збудник кашлюку).

Фаза «бактерійного пилу». З перших двох фаз бактерії можуть переходити до складу крупніших частинок, що осідають у вигляді пилу на різних предметах, утворюючи так званий «бактерійний пил». Його важлива властивість - здатність легко диспергуватись під впливом навіть малих потоків повітря. Розмір частинок варіює від 0,01 до 1 мм. Залежно від розміру частинок і швидкості повітряних течій, швидкість їх переміщення знаходиться в межах 0,5-30 см/с. Унаслідок тривалого перебування в зваженому стані і здатності частинок проникати в дистальні відділи легенів, дрібнодисперсний «бактерійний пил» також представляє епідеміологічну небезпеку. Ця фаза бактерійного аерозолу переважає в повітрі житлових приміщень і з нею розсіваються патогенні мікроорганізми, стійкі до висушування (мікобактерії, клостридії, стафілококи, стрептококи, гриби).

Санітарно-показові мікроорганізми (СПМ) повітря закритих приміщень. До СПМ повітря відносять золотистий стафілокок, стрептококи, грамнегативні бактерії, гриби. Санітарно-мікробіологічні показники повітря нормуються залежно від типу і призначення приміщень.

В повітрі лікарняних приміщень домінують золотистий стафілокок і стрептококи. При цьому в 1 м<sup>3</sup> повітря операційних залів, післяопераційних палат, перев'язувальних, відділень реанімації, пологових залів вони повинні бути відсутніми.

У зв'язку із зростанням частоти захворювань, що викликаються грамнегативними бактеріями, в нормативи включено визначення їх кількості в 1 м<sup>3</sup> повітря приміщень лікувальних установ.

Особливий випадок - повітря аптечних приміщень, де із-за наявності антимікробних препаратів можуть швидко гинути бактерії, але зберегатися гриби, тому їх обов'язково необхідно виявляти при дослідженні повітря аптек.

Методи виділення мікроорганізмів з повітря. Відомо два методи забору проб для бактеріологічного аналізу повітря. Найпростіший, такий, що не вимагає спеціальної апаратури, - метод седиментації Коха, за яким про ступінь мікробного обміненія судять по кількості колоній, що вирости, на МПА в чашці Петрі після того, як 2 чашки витримують відкритими на повітрі протягом 30 хв, потім посіви інкубують в термостаті при 37°C і виявляють видову приналежність мікроорганізмів. Найчастіше в повітрі визначають ЗМЧ (застосовують чашки з МПА), вміст стафілококів (застосовують чашки з жовтково-сольовим агаром), за епідемічними показаннями визначають вміст стрептококів (застосовують чашки з кров'яним агаром). При обстеженні повітря аптек проводять визначення вмісту грибів, використовуючи чашки з середовищем Сабуро. Результати оцінюють за сумарним числом колоній, що вирости на обох чашках. При спокійному стані повітря на площу 100 см<sup>2</sup> осідає стільки мікроорганізмів, скільки їх міститься в 0,01 м<sup>3</sup> повітря. Цей метод використовується як орієнтувальний. Визначення мікробного числа повітря проводять за формулою Омелянського:

$$x = \frac{a \times 100 \times 1000 \times 5}{b \times 10 \times t},$$

де а - кількість колоній, що вирости на чашці; b - площа чашки; t - час протягом якого чашка була відкрита; 5 - час за розрахунком Омелянського; 10 - об'єм повітря (у літрах), з якого проходить осідання мікробів за 5 хв; 100 - площа в см<sup>2</sup>, на яку відбувалося осідання; 1000 - шуканий об'єм повітря в літрах.

Досконалішим є аспіраційний метод з використанням апарату Кротова, який заснований на ударній дії струменя повітря. Принцип дії приладу заснований на механічному прокачуванні повітря через клиновидну щілину в кришці, розташовану над поверхнею живильного середовища в чашці Петрі, що обертається. За 1 хв через вузьку щілину пластини плексигласу пропускається 25 л повітря, мікроби з якого осідають на поверхню живильного середовища в чашці Петрі, при цьому завдяки постійному обертанню чашки під вхідною щілиною, мікроорганізми рівномірно фіксуються по всій поверхні середовища. Як живильне середовище для визначення мікробного числа використовується МПА, а для визначення СПМ - кров'яний агар. Великою перевагою цього методу є можливість посіву визначеного об'єму повітря.

Після інкубації посіву в термостаті підраховують кількість колоній і проводять розрахунок мікробного числа за формулою:

$$x = \frac{a \times 10000}{V},$$

де  $a$  - кількість колоній, що виростили на чашці;  $V$  - об'єм пропущеного повітря через прилад,  $\text{дм}^3$ ; 1000 - шуканий об'єм повітря,  $\text{дм}^3$ .

Основні показники санітарного стану повітря.

Загальне мікробне число (ЗМЧ) повітря - кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) в  $1 \text{ м}^3$  повітря (підраховують колонії, що зростають на поверхні живильного агару при посіві певного об'єму повітря і інкубації протягом 24 год при  $37^\circ\text{C}$  і 24 год при кімнатній температурі).

Присутність *Staphylococcus aureus*. У певному об'ємі повітря визначають наявність золотистого стафілокока (повітря засівають на жовтково-сольовий агар, де зростають характерні колонії грампозитивних коків, що володіють ферментом плазмокоагулазою).

Присутність грибів. Визначають наявність в повітрі дріжджеподібних і цвілевих грибів - підраховують кількість колоній, що зростають на середовищі Сабуро за 96 год при  $22-28^\circ\text{C}$ .

Присутність патогенних мікроорганізмів. За епідеміологічними показаннями в повітрі визначають наявність сальмонел, мікобактерій, вірусів.

Індекс санітарно-показових мікроорганізмів - кількість золотистого стафілокока і гемолітичних стрептококів в  $1 \text{ м}^3$  повітря. Ці бактерії є представниками мікрофлори верхніх дихальних шляхів і мають загальний шлях виділення з патогенними мікроорганізмами, що передаються повітряно-краплинним шляхом.

#### **Конкретні цілі:**

1. Ознайомитися з методами і об'єктами вивчення санітарної мікробіології повітря.
2. Навчитися трактувати методи і способи забору проб повітря закритих приміщень для визначення СПМ.
3. Вивчити основні СПМ повітря закритих приміщень.
4. Навчитися аналізувати і оцінювати допустимі рівні мікробного обміненіння повітря приміщень.

#### **Уміти:**

1. Пояснити правила забору проб повітря.
2. Відібрати проби повітря для дослідження седиментаційним і аспіраційним методами.
3. Визначити мікробне число повітря за методом Коха за допомогою формули Омелянського.

### **Теоретичні питання:**

1. Чи є повітря сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів?
2. Яка роль повітря в передачі інфекційних захворювань?
3. Дайте характеристику мікрофлори повітря.
4. У яких установах проводять планове дослідження мікрофлори повітря?
5. Розкажіть будову апарату Кротова.
6. Назвіть санітарно-показові мікроорганізми повітря закритих приміщень, методи їх виявлення.
7. Які критерії оцінки повітря закритих приміщень?

### **Практичні завдання, які виконуються на занятті:**

1. Для посіву повітря за методом Коха відкрити чашку з МПА на 5 хв, помістити в термостат на 24 год.
2. Для посіву повітря за допомогою апарату Кротова помістити чашку з МПА в прилад, включити його на 1 хв, вийняти і поставити чашку в термостат на 24 год.
3. Визначити мікробне число повітря на демонстраційній чашці (посів повітря за методом Коха) за формулою Омелянського.
4. Оцінити чистоту повітря по таблиці.
5. Зробити висновки про ступінь забруднення повітря закритих приміщень.
6. Оформити протокол.

### **Література:**

1. 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.

### **Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення методів відбору проб повітря закритих приміщень методом седиментації Коха і аспіраційним методом Кротова, визначення мікробного числа повітря. Студенти засівають аспіраційним методом повітря робочої кімнати і ставлять чашки в термос-

тат. Потім студенти визначають і оцінюють загальне мікробне число повітря (посів за методом Коха) по демонстраційній чашці.

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

#### **Цільові навчальні завдання:**

1. Обмеження застосування чашкового методу (методу Коха) відбору проб повітря обумовлене:

A. Неможливістю визначення точного об'єму повітря, з якого осіли мікроорганізми

B. Застосуванням живильних середовищ

C. Не точним визначенням бактерійної забрудненості повітря

D. Застосуванням МПА

E. Підрахуванням кількості колоній, що виростили на МПА

2. Яке живильне середовище використовується для визначення присутності в повітрі стафілококів:

A. Жовтково (молочно)-сольовий агар

B. МПА

C. Ру

D. Плоскирева

E. Ендо

3. У якому об'ємі повітря визначають ЗМЧ:

A.  $1\text{ м}^3$

B.  $10\text{ м}^3$

C.  $100\text{ м}^3$

D.  $1\text{ см}^3$

E.  $1\text{ дм}^3$

4. Конструкція апарату Кротова заснована на принципі:

A. Ударної дії струменя повітря;

B. Висхідного потоку повітря;

C. Підрахунку кількості мікроорганізмів в 1 л повітря;

D. Експозиції чашок в апараті;

E. Уловлювання бактерій мікробіологічним методом.

5. Мікробний контроль повітря проводиться методами:

A. Седиментаційним, аспіраційним;

B. Фізичним, хімічним;

C. Біологічним, мікробіологічним;

D. Методом Коха, фізичним;

E. Аспіраційним, хімічним.

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Ознайомлення з санітарно-показовими мікроорганізмами повітря і методами їх визначення.

2. Ознайомлення з проведенням мікробіологічного контролю повітря методом седиментації Коха, визначення мікробного числа повітря за формулою Омелянського (з використанням демонстраційних чашок).

3. Вивчення нормативів оцінки бактерійної забрудненості повітря в закритих приміщеннях.

4. Ознайомлення з проведенням мікробіологічного контролю повітря аспіраційним методом за допомогою апарату Кротова.

5. Аналіз отриманих результатів.

6. Оформлення протоколу.

## МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 43

**Тема:** Клінічна мікробіологія. Шпитальні інфекції.  
**Мета:** Вивчення понять клінічна мікробіологія, ознайомлення з методами профілактики шпитальних інфекцій.

**Модуль 2.** Спеціальна, клінічна і екологічна мікробіологія.

**Змістовний модуль 13.** Основи клінічної і екологічної мікробіології.

**Тема 21.** Загальна характеристика клінічної мікробіології.

**Тема 23.** Шпитальні інфекції.

**Актуальність теми.** Клінічна мікробіологія - це розділ медичної мікробіології, присвячений вивченню захворювань, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами. Розвиток подібних захворювань пов'язаний із зниженням імунного статусу людини, розвитком іммунодефіцитних станів, інтенсивною антибіотикотерапією, порушенням екологічного балансу у складі нормальної мікрофлори і ін. Дані інфекції нерідко виникають у хворих в хірургічних, дитячих і інших відділеннях, а також серед новонароджених в акушерських клініках. У цих випадках їх називають внутрішньолікарняними або шпитальними інфекціями. Таким чином, захворювання, пов'язані з наданням медичної допомоги, позначають терміном ятрогенія, внутрішньолікарняні (шпитальні, нозокоміальні) інфекції.

Завдання клінічної мікробіології - вдосконалення лабораторних методів бактеріологічної діагностики, вивчення ролі окремих видів умовно-патогенних мікроорганізмів і їх асоціацій в етіології, патогенезі запальних процесів екзогенного і ендогенного походження, обґрунтування методів раціональної специфічної і неспецифічної терапії, а також розробка методів профілактики.

Значення клінічної мікробіології в роботі лікаря: знання про видовий склад мікрофлори при гнійно-запальних захворюваннях і внутрішньолікарняних інфекціях, про частоту стійких до антибіотиків штамів, причини антибіотикостійкості, ступінь вірулентності мікроорганізмів і факторів, що їх визначають.

Епідеміологія. Практично будь-який пацієнт стаціонару схильний до розвитку інфекційних процесів. Внутрішньолікарняні інфекції характеризує висока контагіозність, можливість спалахів у будь-який час року, наявність пацієнтів з підвищеним ризиком захворювання, можливість рецидивів, а також широкий спектр збудників. Особливості епідемічного процесу визначають вид етіологічного агента і тип стаціонару. Серед хворих на шпитальні інфекції (ШІ) виділяють три групи пацієнтів: 1) пацієнти, інфіковані усередині стаціонару; 2) пацієнти, інфіковані в умовах поліклі-

нік; 3) медичний персонал, що заразився при роботі в умовах стаціонару або поліклінік. Розповсюдженню внутрішньолікарняних інфекцій сприяють порушення правил асептики, будь-які відхилення від санітарно-гігієнічних норм для стаціонарів і поліклінік, а також значна частота носійства патогенної флори серед медичного персоналу.

Етіологія. Спектр збудників ШІ надзвичайно широкий і включає віруси, бактерії, гриби і найпростіші. Основні збудники бактерійних інфекцій - стафілококи, пневмококи, грамнегативні ентеробактерії, псевдомонади і анаероби. На сучасному етапі провідну роль грають стафілококи (60 % випадків всіх внутрішньолікарняних інфекцій), грамнегативна мікрофлора, респіраторні віруси і гриби роду *Candida*.

Механізми передачі збудників: фекально-оральний, повітряно-краплинний, трансмісивний, побутовий і ятрогенний (в результаті лікувальних і діагностичних процедур).

Штами бактерій, виділені від пацієнтів з нозокоміальними інфекціями, як правило, більш вірулентні і володіють більшою стійкістю до антибактеріальних препаратів. У лікувально-профілактичних установах має місце постійна зміна видового складу збудників внутрішньолікарняних інфекцій за рахунок занесення із зовні, що вимагає постійного контролю за мікробним біоценозом і визначення чутливості до антибіотиків.

Основними джерелами шпитальних інфекцій є хворі, носії, відвідувачі лікувальних установ, медичні працівники. Роль осіб, повернутих до догляду за хворими, і відвідувачів, що відвідують хворих, украй обмежена.

Клінічні прояви визначаються локалізацією процесу, кількістю і вірулентністю штамів, що проникли. Первинні симптоми розвиваються швидко, часто раптово. Перший прояв - підвищенні температури.

Діагностика. Інфекцію слід вважати ятрогенною, якщо вона розвинулася після медичного втручання або відвідування лікувально-профілактичних установ через проміжок часу тривалістю не менш мінімального інкубаційного періоду. Для опортуністичних інфекцій він складає 2-4 діб.

Непрямою ознакою розвитку ятрогенної інфекції є раптовий підйом температури у пацієнта, що піддався якій або процедурі. Для постановки остаточного діагнозу слід провести забір відповідних проб і провести їх бактеріологічне дослідження.

Терапія. Найважливіша складова специфічної терапії у госпіталізованих пацієнтів з підвищеним ризиком розвитку інфекції - їх профілактика.

Украй необхідні часта зміна пов'язок, дренажування і санація ран, забезпечення чистоти навколишнього середовища; слід проводити постійний контроль за носійством потенційно патогенних мікроорганізмів серед медичного персоналу і призначати превентивну санацію при їх виявленні.

**Конкретні цілі:**

1. Визначити поняття клінічна мікробіологія.
2. Визначити поняття нозокоміальні і ятрогенні інфекції.
3. Визначити круг можливих збудників шпитальних інфекцій.
4. Визначити причини виникнення шпитальних інфекцій.
5. Ознайомитися з мікробіологічними методами дослідження шпитальних інфекцій. Визначити поняття «дисбактеріоз».

**Уміти:**

1. Забирати діагностичний матеріал для досліджень.
2. Проводити бактеріоскопічне і бактеріологічне вивчення досліджуваного матеріалу.

**Теоретичні питання:**

1. Поняття клінічна мікробіологія і шпитальні інфекції.
2. Поняття ятрогенні інфекції.
3. Причини виникнення і джерела внутрішньолікарняних інфекцій.
4. Мікроорганізми - збудники внутрішньолікарняних інфекцій.
5. Розбір схем лабораторної діагностики шпитальних інфекцій.
6. Нормальна мікрофлора організму людини. Дисбактеріоз.

**Література:**

1. 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.

**Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.**

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Розбір і запис схем лабораторної діагностики в протокол.

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

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

**Цільові навчальні завдання:**

1. У хірургічному відділенні почастишали випадки післяопераційних ускладнень у вигляді нагноювання операційних ран. Назвіть найбільш вірогідне джерело інфекції.

А. Носії патогенної флори серед медичного персоналу

В. Шкіра пацієнтів

С. Руки хірурга

D. Шовний і перев'язувальний матеріал

E. Повітря операційної

2. Під час перев'язки опікової рани медсестра відмітила на пов'язці виділення синьо-зеленого кольору. Який мікроорганізм став причиною даного ускладнення?

A. *S.aureus*

B. *Proteus vulgaris*

C. *S.epidermidis*

D. *E.coli*

E. *Pseudomonas aeruginosa*

3. У чоловіка 79 років, що знаходиться на постільному режимі з приводу перелому стегнової кістки, несподівано підвищилася температура тіла до 39,4 °С, з'явився кашель з виділенням мокротиння і прожилками крові. При фарбуванні мокротиння за Грамом мікроскопічно переважали грампозитивні диплококи. Який мікроорганізм є найбільш вірогідним збудником?

A. *S.aureus*

B. *Streptococcus pneumoniae*

C. *Legionella pneumophila*

D. *Klebsiella pneumoniae*

E. *Mycoplasma pneumoniae*

4. Після проведення операції на кишечнику у хворого розвинулася бактеріємія. Який мікроорганізм є найбільш вірогідною причиною виникнення даного ускладнення?

A. *Escherichia coli*

B. *Salmonella typhi*

C. *Shigella sonnei*

D. *Vibrio cholerae*

E. Все вищеперелічене

5. У пацієнта урологічного відділення після проведення катетеризації сечового міхура розвинувся гострий цистит, викликаний *Pseudomonas aeruginosa*. Як називається такий тип інфекції?

A. Вторинна

B. Реінфекція

C. Шпитальна

D. Суперінфекція

E. Рецидив

6. У хірургічному відділенні почастишали випадки гнійних післяопераційних ускладнень, викликаних стафілококами. Який метод необхідно провести для встановлення джерела інфекції?

A. Виявлення гемолізину

B. Тест на плазмокоагулазу

C. Визначити чутливість до антибіотиків

D. Фаготипування

E. Все вищеперелічене

#### **Алгоритм лабораторної роботи:**

1. Мікроскопія готових мазків.

2. Ознайомлення з правилами забору матеріалу від хворих для мікроскопії досліджуваного матеріалу.

3. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.

4. Зарисовка препаратів в протокол.

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

*Навчальне видання*

**МОДУЛЬ 2.  
СПЕЦІАЛЬНА, КЛІНІЧНА  
І ЕКОЛОГІЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ**

*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.