

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
З МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ**

Частина IV

Київ - 2020 рік

Зміст

Практичне заняття	ТЕМА	Сторінка
№25	Стафілококи і стрептококи. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених стафілококами і стрептококами	3
№26	Менінгококи і гонококи. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених менінгококами і гонококами	10
№27	Ешеріхії. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених кишковою паличкою	15
№28	Сальмонели. Мікробіологічна діагностика черевного тифу, паратифів та сальмонельозних гастроентеритів	19
№29	Шигели. Мікробіологічна діагностика дизентерії	27
№30	Вібріони. мікробіологічна діагностика холери	31
№31	Коринебактерії. Мікробіологічна діагностика дифтерії	36
№32	Мікобактерії. Мікробіологічна діагностика туберкульозу	41
№33	Збудники анаеробних інфекцій. Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій	46
	Рекомендована література	53

Практичне заняття №25

Тема: «Стафілококи і стрептококи. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених стафілококами і стрептококами»

Актуальність теми:

Серед збудників гнійно-запальних процесів одне з провідних місць займають грампозитивні коки, що є представниками родини *Staphylococcaceae* та *Streptococcaceae*. Ці мікроорганізми пов'язані з гострими і хронічними інфекціями дихальних шляхів, шкірних покривів та підшкірної клітковини, сечовивідних шляхів, сепсисом та синдромом токсичного шоку тощо, у дітей є збудниками стафіло- і стрептодермій, епідермічної пухирчатки, імпетиго. Окремі штами *Staphylococcus aureus* викликають харчові інтоксикації, *Streptococcus pyogenes* етіологічно пов'язаний з розвитком ускладнень при ревматизмі (ревматичної лихоманки, гломерулонефриту, септичного ендокардиту), у світі щорічно реєструється більш як 500 000 випадків пневмоній, спричинених *Streptococcus pneumoniae*.

Як стафілококи, так і стрептококи можуть бути причиною опортуністичних інфекцій, що важливо з огляду на темпи поширення ВІЛ інфекції в Україні. Не менш важливим є той факт, що стафілококи і стрептококи, включаючи *Staphylococcus aureus* і *Streptococcus pyogenes*, є факультативними резидентами мікробіоценозів організму людини, в результаті чого досить широко представлені в різних клінічних матеріалах та можуть враховуватись, як бактеріологічні знахідки, не маючи етіологічного значення для конкретного гнійно-запального процесу.

Все вищезазначене зумовлює актуальність набуття студентами глибоких знань щодо властивостей, екології та патогенності даних мікроорганізмів.

Конкретні цілі:

- Засвоїти основні біологічні властивості стафілококів, стрептококів та пневмококів;
- Оволодіти основними методами мікробіологічної діагностики, лікування та профілактики захворювань, спричинених грампозитивними коками.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція)

Назви попередніх дисциплін	Отримані навички
Анатомія людини	Аналізувати інформацію про будову тіла людини, системи, що його складають, органи і тканини
Гістологія, цитологія, ембріологія	Інтерпретувати мікроскопічну та субмікроскопічну структуру клітин
Медична і біологічна фізика	Тракувати загальні фізичні та біофізичні закономірності, що лежать в основі біологічних процесів.

Медична біологія	Пояснювати на молекулярно-біологічному та клітинному рівні закономірності біологічних процесів
Медична хімія	Тракувати загальні фізико-хімічні закономірності, що лежать в основі процесів розвитку клітин

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Піогенні коки	Велика група мікробів, що об'єднана схожою морфологією (клітини коків мають кулеподібну форму) та здатністю викликати утворення гною.
Токсини бактерій	Продукти бактеріального метаболізму, що мають безпосередній токсичний вплив на клітини макроорганізму, або опосередковано викликають розвиток симптомів інтоксикації.
Гнійно-запальні інфекції	Інфекції, що супроводжуються утворенням гною або розвитком серозно-гнійного запалення (нагноєнням). Стосовно локалізації гнійно-запальні інфекції поділяють на генералізовані (загальні), наприклад – сепсис, септикопемія тощо, та місцеві (піддермія, фурункул, карбункул, абсцес, флегмона).
Стафілококові гемотоксини (гемолізени)	Речовини білкової природи, які спричиняють лізис еритроцитів і ініціюють синтез антигемолізинів. Вони присутні в безклітинних фільтратах культур стафілококів.
Білок А	Фактор патогенності стафілококів, що здатен неспецифічно зв'язувати і блокувати Fc-фрагменти молекул IgG (активують компоненти комплементу за класичним та альтернативним шляхом) та посилювати активність природних кіллерів.
Стрептокіназа	Протеолітичний фермент, який продукують більшість стрептококів групи А. Стрептокіназа активує плазміноген, що призводить до утворення плазміну і розчинення фібринових волокон. Стрептокіназа широко застосовується в клінічній практиці з метою розсмоктування тромбів, фібринозних та гнійних ексудатів.

Теоретичні питання до заняття:

- Історія відкриття та вивчення грампозитивних коків.
- Особливості морфології, антигенної будови культуральних та біохімічних властивостей представників родин *Staphylococcaceae* та *Streptococcaceae*.
- Ферментативні властивості та фактори патогенності стафілококів, стрептококів та пневмококів/
- Епідеміологія, патогенез та клініка захворювань, спричинених стафіло-, стрепто- та пневмококами.

- Особливості мікробіологічної діагностики інфекцій, спричинених грампозитивними коками.
- Лікування та профілактика стафіло-, стрепто- та пневмококових інфекцій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити морфо-тинкторіальні, культуральні та ферментативні властивості стафілококів, стрептококів та пневмококів.
- Записати схеми мікробіологічної діагностики стафілококових та стрептококових захворювань.
- Розпочати бактеріологічну діагностику гнійного і септичного процесу.
- Ознайомитись з препаратами для діагностики, специфічної профілактики і терапії захворювань, спричинених грампозитивними коками.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти виготовляють бактеріоскопічні препарати з чистих культур стафілококів та стрептококів, фарбують за Грамом, здійснюють їх мікроскопію; користуючись демонстраційними засівами чистих культур стафілококів та стрептококів, вивчають культуральні та ферментативні властивості грампозитивних коків; створюють схему мікробіологічної діагностики стафілококових та стрептококових інфекцій; розпочинають бактеріологічну діагностику гнійно-запального процесу: клінічний матеріал засівають за методом Дригальського на жовтково-сольовий агар; розпочинають бактеріологічну діагностику септичного процесу: кров хворого засівають на м'ясо-пептонний глюкозний бульйон.

Рекомендації для оформлення протоколу

Ознаки, за якими диференціюють стафілококи від мікрококів

Ознаки	Рід <i>Micrococcus</i>	Рід <i>Staphylococcus</i>
Ферментація глюкози в анаеробних умовах	-	+
Вміст Г+Ц пар у ДНК	66-75%	30-40%

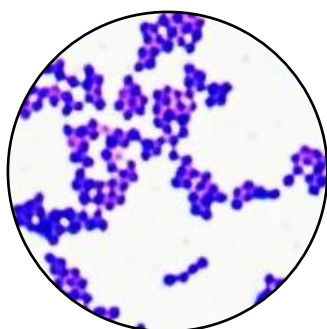
Ознаки, за якими диференціюють види стафілококів

Ознаки	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Коагулаза	++	-	-
Термостійка ендонуклеаза	+	-	-
Ферментація маніту в ан. умовах	+	-	-
Протеїн А	+	-	-
α токсин	+	-	-
Чутливість до новобіоцину	+	+	-

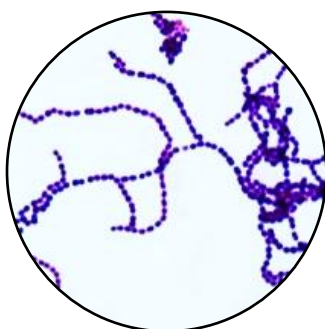
Фактори патогенності піогенних грампозитивних коків

Стафілококів	Стрептококів
ТОКСИНИ	
α-гемолізін	О-стрептолізін
β-гемолізін	S-стрептолізін
γ-гемолізін	лейкоцидин
σ-гемолізін	цитотоксини
ентеротоксини	еритрогенні токсини (скарлатинозні токсини АВС)
ексфолюативні токсини А, В, токсин синдрому токсичного шоку	
ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ	
плазмокоагулаза	дезоксирибонуклеаза
гіалуронідаза	гіалуронідаза
фібринолізін	стрептокіназа (фібринолізін)
лецитиназа	протеїназа
ендонуклеаза	
протеїназа	
фосфатаза	
ПОВЕРХНЕВІ СТРУКТУРИ	
мікрокапсула	мікрокапсула (капсула у пневмокока)
білок А	білок М (фімбріальний)

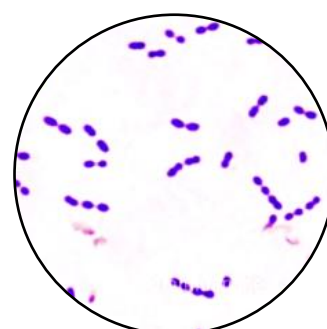
Рис.1. Особливості морфології представників родин *Staphylococcaceae* та *Streptococcaceae*



Staphylococcus aureus



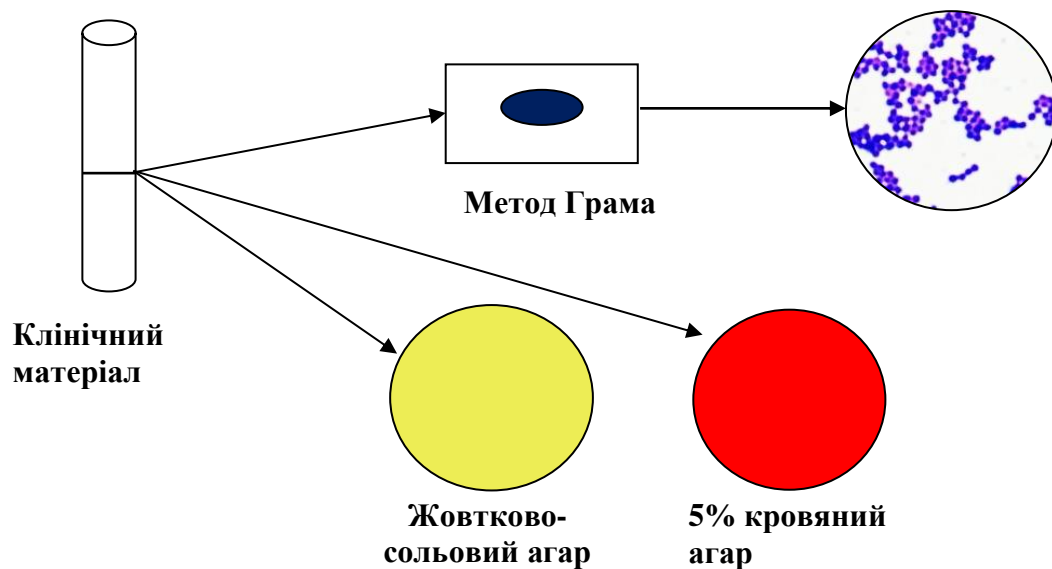
Streptococcus pyogenes



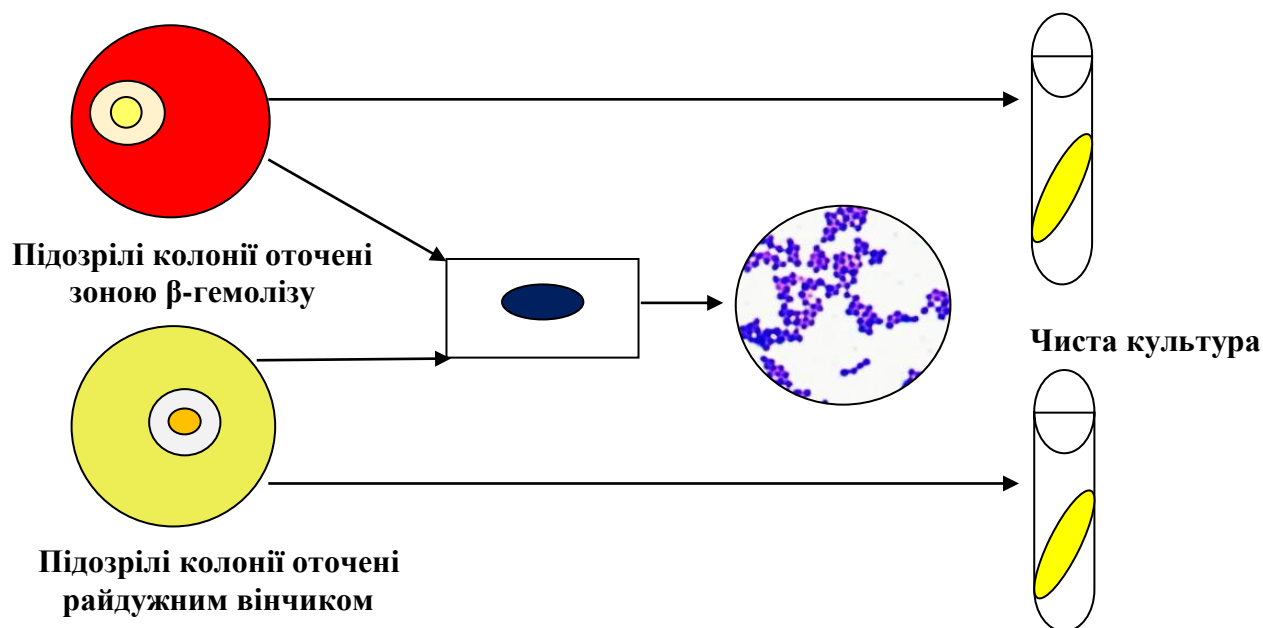
Streptococcus pneumoniae

Схема бактеріологічної діагностики стафілококової інфекції

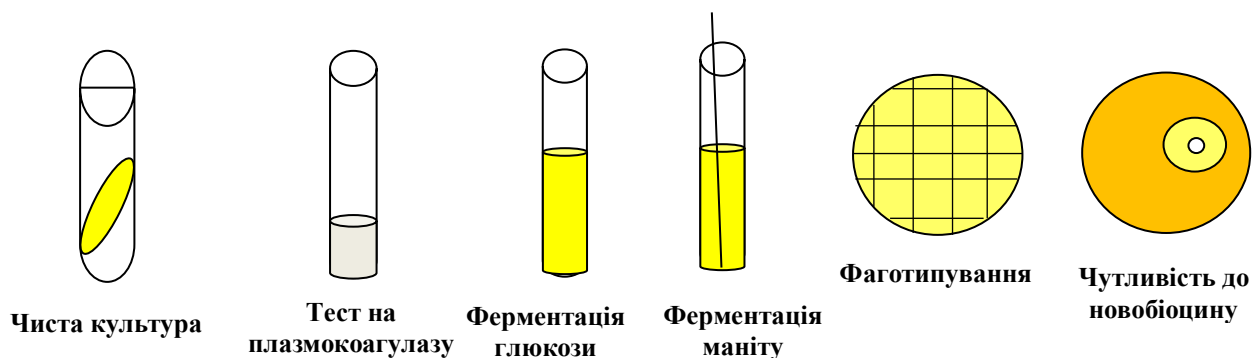
1 день – посів досліджуваного матеріалу



2 день – відсів підозрілих на стафілококи колоній



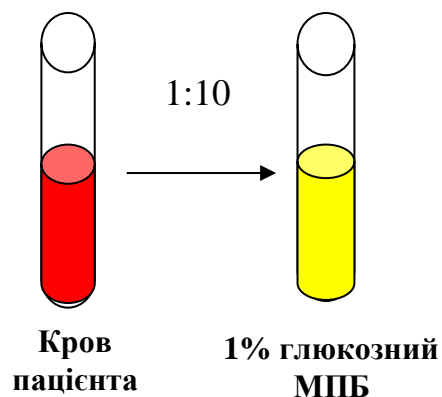
3 день – відсів на середовища та субстрати для ідентифікації



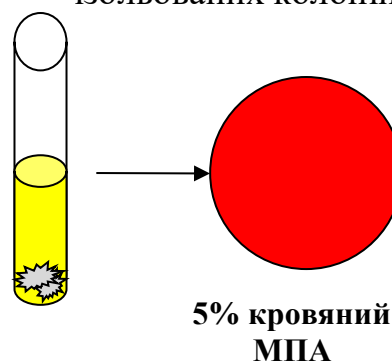
Висновок: Якщо виділена культура мікроорганізмів представлена грампозитивними коками, утворює жовтий пігмент на щільних поживних середовищах та зону гемолізу на кров'яному агарі, позитивна в пробах на наявність плазмокоагулази та лецитинази, ферментує глюкозу і маніт та чутлива до новобіоцину, то вона може бути ідентифікована як *Staphylococcus aureus*.

Схема бактеріологічного дослідження крові при підозрі на стрептококовий сепсис

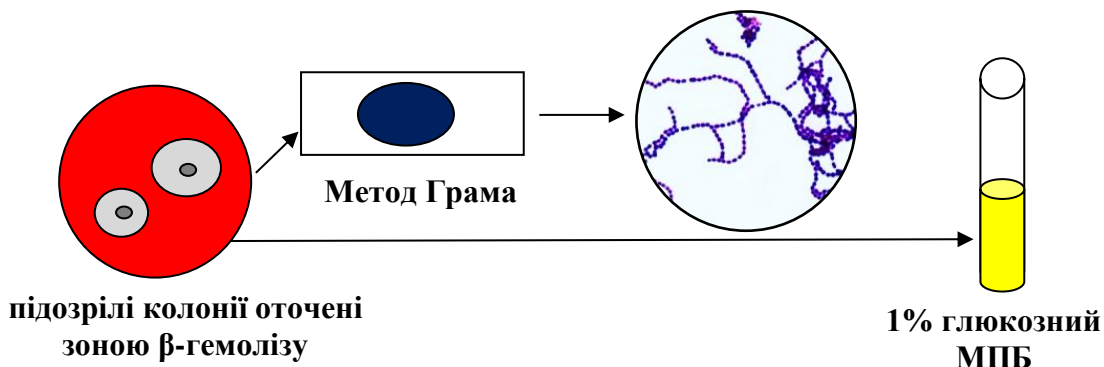
1 день - посів на універсальне середовище накопичення



2 день - висів на щільне середовище для отримання ізольованих колоній

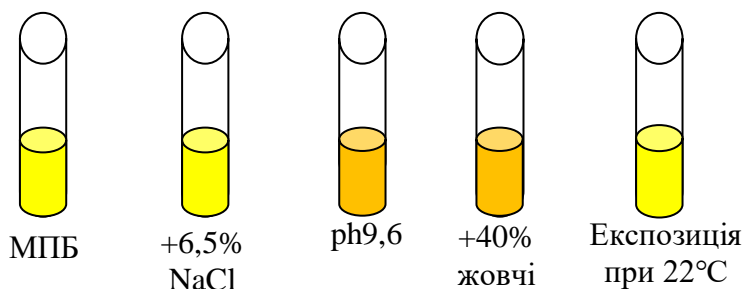


3 день – відсів підозрілих на стрептококи колоній

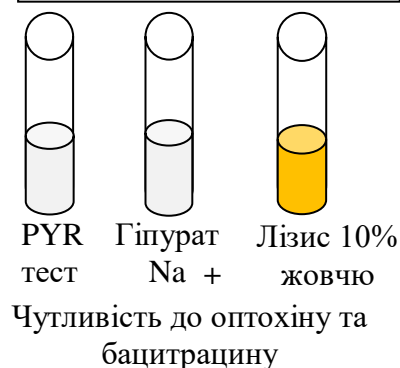


4 день

Тести для віднесення до роду *Streptococcus* 1% глюкозний МПБ



Тести для міжвидового диференціювання



Висновок :

Якщо виділена культура мікроорганізмів представлена грампозитивними коками, що мають тенденцію до взаємного розміщення ланцюжками, колонії на кров'яному агарі оточені зоною β -гемолізу, негативні за культуральними тестами, позитивні за PYR-тестом, не гідролізують гіпурат натрію та чутливі до бацитрацину і резистентні до оптохіну, вона може бути ідентифікована як *S. pyogenes*.

Якщо виділена культура демонструє зазначені вище властивості але має негативний PYR-тест і гідролізує гіпурат натрію, вона може бути ідентифікована як *S. agalactia*.

Якщо виділена культура мікроорганізмів представлена грампозитивними коками, що мають тенденцію до взаємного розміщення попарно чи поодинокі, колонії на кров'яному агарі оточені зоною α -гемолізу чи позеленінням, негативні за культуральними тестами, лізуються 10% жовчю, резистентні до бацитрацину і чутливі до оптохіну, вона може бути ідентифікована як *S. pneumoniae*.

Питання для самоконтролю:

- Які захворювання викликають стафілококи, стрептококи та пневмококи?
- Який матеріал досліджують при захворюваннях, викликаних стафілококами?
- Які основні методи лабораторного дослідження для виявлення стафіло-, стрепто- та пневмококів?
- Які токсини та ферменти патогенності утворюють стафілококи, стрептококи та пневмококи?
- На яких середовищах вирощують стафілококи та стрептококи?
- Яка методика постановки реакції плазмокоагуляції?
- Яка серологічна група стрептококів найбільш патогенна для людини?
- З якою метою проводять фаготипування?

Практичне заняття №26

Тема: «Менінгококи і гонококи. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених менінгококами і гонококами»

Актуальність теми:

Серед збудників запальних процесів, що супроводжуються гноєтворенням, особливе місце займають патогенні нейсерії, до них належать збудники менінгококової інфекції та гонореї.

Менінгококова інфекція належить до широко розповсюджених захворювань. За даними ВООЗ вона реєструється більш ніж в 150 країнах світу, особливо часто епідемії виникають в зоні так званого «Поясу менінгіту», куди входять 15 країн Екваторіальної Африки. Одна з найбільших епідемій відбулась у 2015 році, в той час у Міністерство охорони здоров'я Нігерії повідомило ВООЗ про 8 500 випадків менінгококового менінгіту, включаючи 573 смертельних. Це був найбільший спалах менінгіту, спричинений серогрупою C *Neisseria meningitidis*. В той же час в Україні за 2019 рік було зареєстровано 202 випадки менінгококової інфекції, що на 16,1% більше, ніж в попередньому році.

Захворюваність на гонорею також являється однією з важливих медико-соціальних проблем, що зумовлено її широким розповсюдженням, серйозними ускладненнями та збільшенням кількості антибіотикорезистентних штамів збудника. Щомісячно реєструється приблизно 200 випадків захворювання на гонорею в Україні. Наведені дані свідчать про актуальність теми заняття та спрямовані на формування мотивації її вивчення.

Конкретні цілі:

- Засвоїти основні біологічні властивості менінгококів та гонококів.
- Оволодіти основними методами мікробіологічної діагностики менінгококової інфекції та гонореї.
- Аналізувати сучасні підходи до лікування та профілактики менінгококової інфекції та гонореї.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Менінгококова інфекція	Гостре інфекційне захворювання людини, викликане <i>Neisseria meningitidis</i> , яке передається повітряно-краплинним шляхом і характеризується локальним ураженням слизової оболонки носоглотки з подальшою генералізацією у вигляді менінгококової септицемії (менінгококцемія) та запалення м'яких мозкових оболонок (менінгіт).

IgA - протеази	Білки, що розщеплюють молекули IgA в шарнірній області, і цим самим захищають мікроорганізми від дії секреторних антитіл.
Незавершений фагоцитоз	Процес, при якому поглинуті мікроорганізми блокують ферментативну активність фагоциту, не гинуть, не руйнуються і навіть розмножуються в фагоцитах.
Гонококова інфекція	Гостре або хронічне інфекційне захворювання людини, викликане <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , яке передається статевим шляхом і характеризується гнійним запаленням слизової оболонки сечовивідних шляхів (гонорея), кон'юнктиви ока (бленорея), інших органів, інтоксикацією.

Теоретичні питання до заняття:

- Історія відкриття та вивчення нейсерій.
- Особливості морфології, антигенної будови та культуральних властивостей збудників менінгококової та гонококової інфекцій.
- Біохімічні властивості та фактори патогенності *Neisseria meningitidis* та *Neisseria gonorrhoeae*.
- Епідеміологія, патогенез та клініка захворювань спричинених *Neisseria meningitidis* та *Neisseria gonorrhoeae*.
- Особливості мікробіологічної діагностики інфекцій, спричинених *Neisseria meningitidis* та *Neisseria gonorrhoeae*.
- Лікування та профілактика гонореї і менінгококової інфекції.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити морфологічні, культуральні та ферментативні властивості *Neisseria meningitidis* та *Neisseria gonorrhoeae* (демонстрація).
- Створити схеми мікробіологічної діагностики менінгококової інфекції та менінгококового бактеріоносійства.
- Засвоїти основні принципи мікробіологічної діагностики гонореї.
- Ознайомитись з препаратами для діагностики, специфічної профілактики і терапії менінгококової інфекції та гонореї.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають морфологію менінгококів та гонококів, здійснюючи мікроскопування препаратів з чистої культури менінгококів (за Грамом), менінгококи в спинномозковій рідині (за Грамом), явище незавершеного фагоцитозу гонококів в матеріалі з уретри. Студенти також на демонстраційних препаратах знайомляться з культуральними, біохімічними та іншими біологічними властивостями менінгококів та гонококів, створюють схему мікробіологічної діагностики менінгококового захворювання та гонореї. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу

Фактори патогенності *N. meningitidis*

- 1. Ендотоксин (ліпополісахарид)** – опосередковує більшість клінічних проявів (ураження судин та крововиливи у внутрішні органи → екзантема у вигляді геморагічної висипки)
- 2. Пілі (білок пілін)** – прикріплення менінгококів до клітин людини, переважно до епітелію носоглотки та оболонок мозку
- 3. Капсула** – антифагоцитарна активність
- 4. Ig A₁-протеаза** – руйнує Ig A₁ в шарнірній ділянці, що захищає бактерії від дії антитіл.

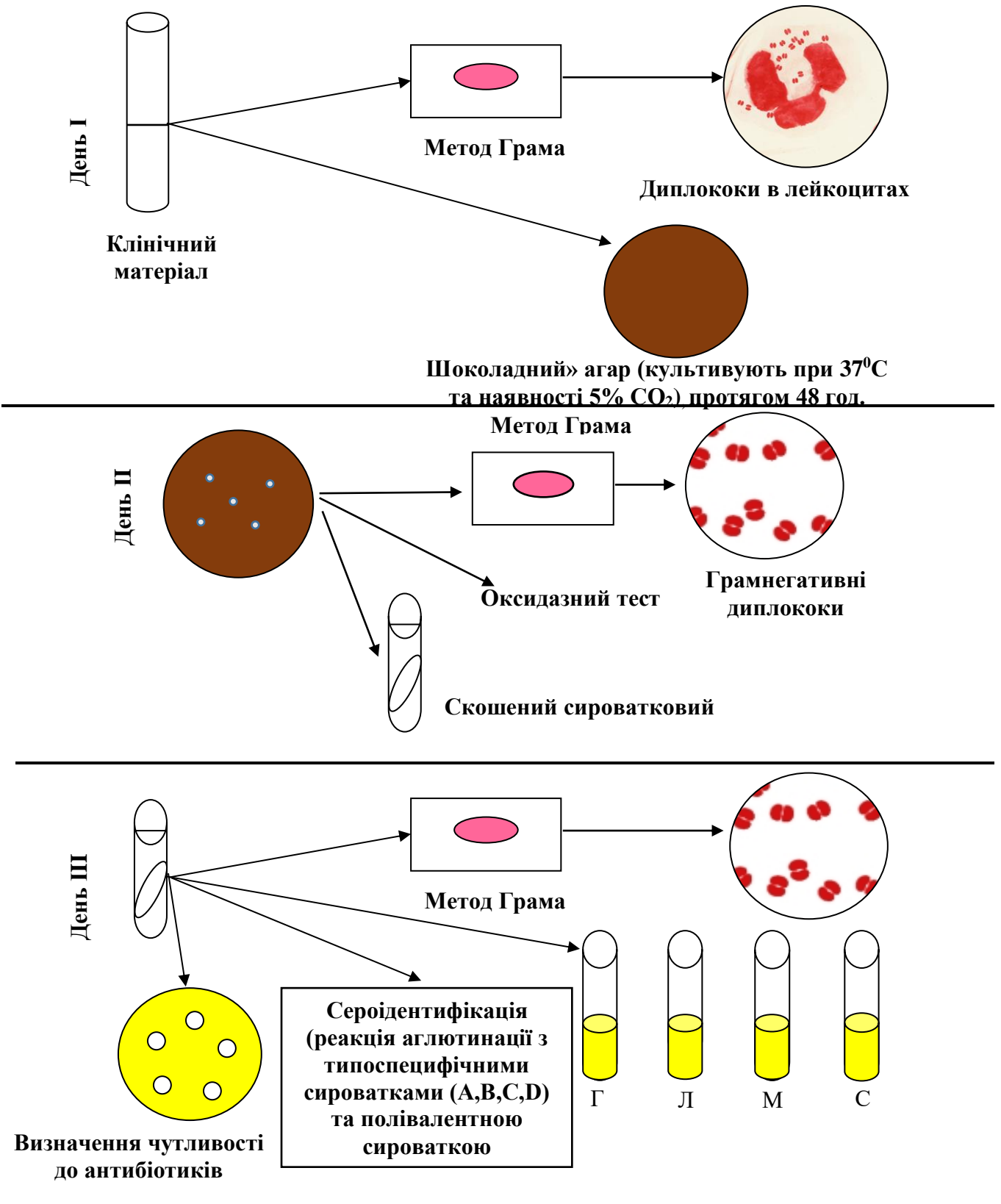
Фактори патогенності *N. gonorrhoeae*

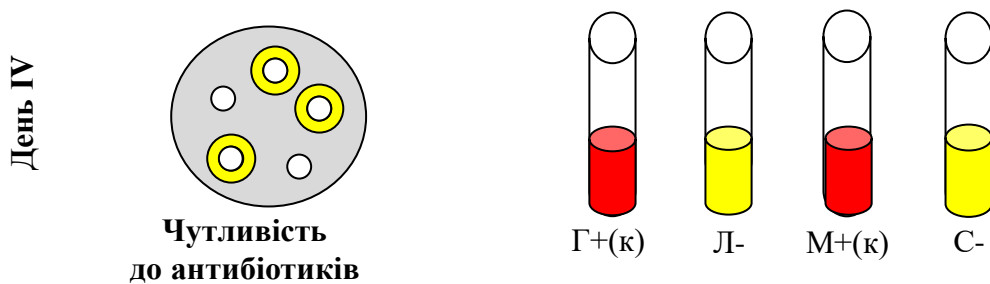
- 1. Пілі (білок пілін)** – прикріплення гонококів до епітелію піхви, фалопієвих труб та порожнини рота
- 2. Капсула** – антифагоцитарна активність
- 3. Білки зовнішньої мембрани:**
 - Протеїн 1 (Por – пориновий білок)** – здатність до внутрішньоклітинного виживання бактерій, перешкоджає злиттю лізосом з фагосоною нейтрофілів
 - Протеїн 2 (Opa – opacity protein – протеїн мутності)** – опосередковує міцне прикріплення до епітеліальних клітин та інвазію всередину клітини
 - Протеїн 3 (Rmp – reduction modifiable protein)** - захищає поверхневі антигени (Por-білок, ліпоолігосахарид) від бактерицидних АТ
- 4. Ліпоолігосахарид** – має властивості ендотоксину
- 5. Ig A₁-протеаза** – руйнує Ig A₁ в шарнірній ділянці, що захищає бактерії від дії антитіл
- 6. β-лактамаза (кодується плазмідом)** – гідролізує β-лактамне кільце пеніцилінів

Диференційні ознаки нейсерій за культуральними та біохімічними властивостями

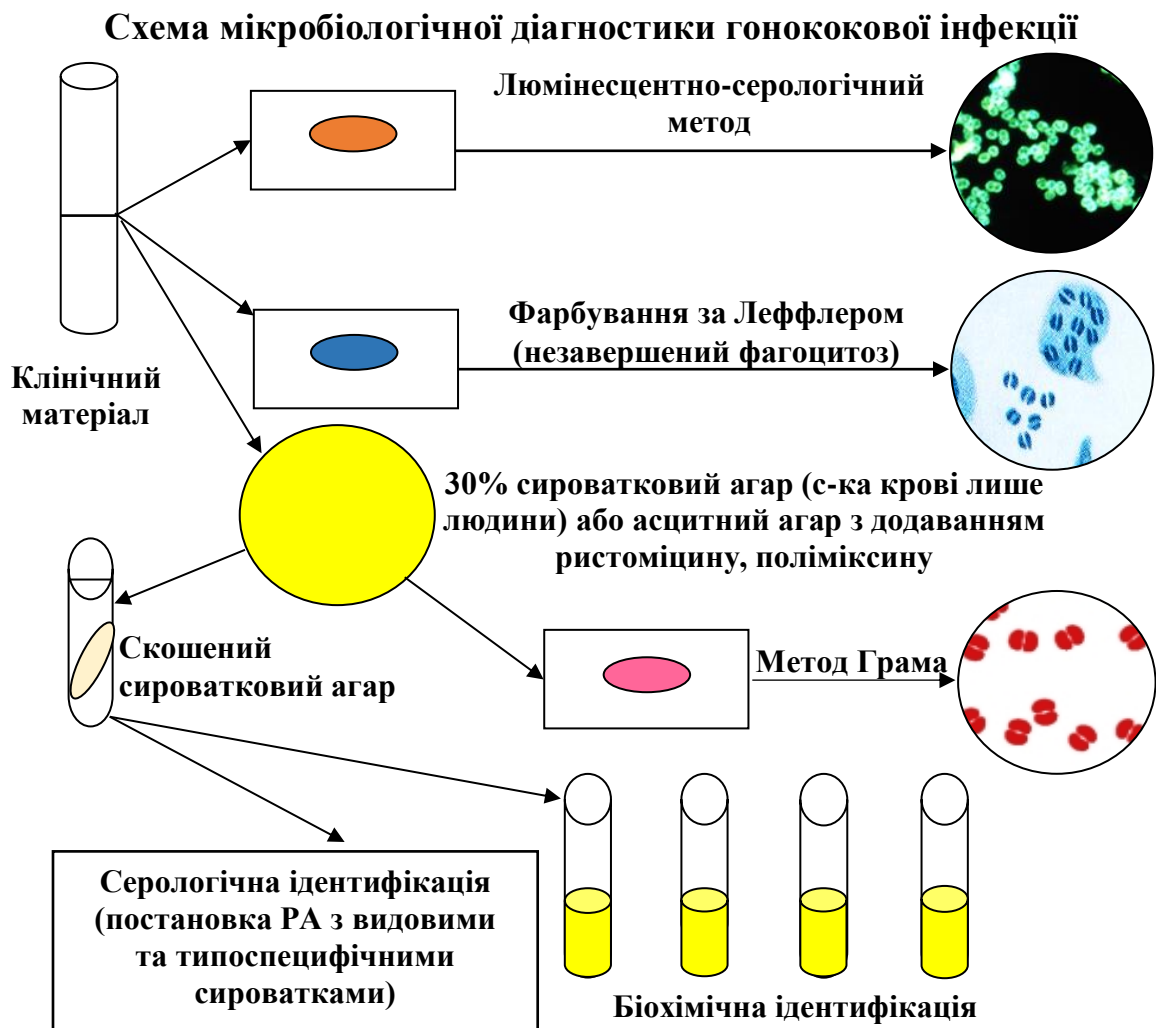
Вид	Ріст на			Залежність росту від CO ₂ в перших генераціях	Оксидаза	Ферментація цукрів			
	МП А	Сироватковий агар				Г	М	С	Ф
		37°C	22°C						
<i>N. meningitidis</i>	–	+	–	+	+	+	–	–	
<i>N. gonorrhoeae</i>	–	+	–	+	+	–	–	–	
<i>N. sicca</i>	+	+	±	–	+	+	+	+	
<i>N. flava</i>	+	+	±	–	+	+	–	+	
<i>N. lactamica</i>	+	+	±	–	+	–	–	–	
<i>N. mucosa</i>	+	+	–	–	+	+	–	+	
<i>N. catarrhalis</i>	+	+	+	–	+	–	–	–	

Схема мікробіологічної діагностики менінгококової інфекції





Висновок:



Висновок:

Питання для самоконтролю.

- Опишіть морфологічні, культуральні та біохімічні властивості нейсерій.
- Які захворювання викликають менінгококи?
- Назвіть основні входні ворота менінгококової інфекції.
- Опишіть фактори патогенності і патогенез менінгококової інфекції.
- На яких середовищах культивують менінгококи? Які умови необхідні для їх росту?
- Який матеріал служить для виявлення гонококів?
- Який метод дослідження є основними при гострій формі гонореї?

Практичне заняття №27

Тема: «Ешеріхії. Мікробіологічна діагностика захворювань, спричинених кишковою паличкою»

Актуальність теми:

Кишкові інфекції займають одне з провідних місць в інфекційній патології людини. Проблема гострих кишкових інфекцій є дуже актуальною внаслідок їх широкого розповсюдження та високої вразливості всіх категорій населення. Особливе місце серед них займають ешеріхіози – хвороби, обумовлені різними штамми кишкових паличок. Патогенні кишкові палички спричиняють колі-ентерит у дітей раннього віку, дизентерієподібні та холероподібні захворювання у дітей та дорослих. Серед кишкових інфекцій на долю ешеріхіозів припадає 15-30%. Зростання захворюваності ешеріхіозами, тяжкість їх перебігу вимагає диференціальної діагностики з іншими кишковими інфекціями, такими як дизентерія, сальмонельоз та інші. За клінічними ознаками не можна диференціювати дизентерію від колі-ентериту і тільки лабораторні дослідження дають можливість визначити етіологічний діагноз. Усе це підтверджує актуальність вивчення теми в курсі спеціальної мікробіології.

Конкретні цілі:

- Інтерпретувати біологічні властивості ешеріхій, збудників колі-ентеритів.
- Пояснювати патогенетичні закономірності захворювань, спричинених патогенними ешеріхіями.
- Визначати методи мікробіологічної діагностики, етіотропної терапії та профілактики колі-ентеритів.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Ешеріхіози	Група інфекційних захворювань, які викликає бактерії роду <i>Escherichia</i> родини <i>Enterobacteriaceae</i> .
Види ешеріхіозів	Розрізняють два види ешеріхіозів: 1. Захворювання, яке викликала умовно-патогенна кишкова паличка, звичайний представник нормальної мікрофлори кишечника; 2. Захворювання, що викликають патогенні серовари ешеріхій (колі-ентерити, колі-інфекції).

Збудники колі-інфекцій	<p>Збудники колі-інфекцій поділяються на п'ять типів: ентеропатогенні кишкові палички (ЕПКП), ентеротоксигенні кишкові палички (ЕТКП), ентероінвазивні кишкові палички (ЕІКП), ентерогеморагічні кишкові палички (ЕГКП) і ентероадгезивні кишкові палички (ЕАКП).</p> <p>ЕПКП – викликають колі-ентерити. ЕІКП – викликають дизентерієподібні ураження. ЕТКП – викликають холероподібні захворювання. ЕГКП – викликають діареї з виділенням крові. Останні (ЕАКП) вивчені ще недостатньо.</p>
Особливості бактеріологічної діагностики ешерихіозів	<p>Її особливість полягає в тому, що виділення й ідентифікація збудника базується на вивченні його антигенної структури, а не на вивченні його культуральних і біохімічних властивостей.</p>

Теоретичні питання до заняття:

- Класифікація та загальна характеристика представників родини ентеробактерій.
- Сучасні погляди на еволюцію кишкових бактерій.
- Антигенна структура ешерихій.
- Роль кишкової палички в фізіології та патології людини.
- Захворювання, які викликає кишкова паличка, їх класифікація.
- Методи мікробіологічної діагностики ешерихіозів, їх оцінка.
- Препарати для лікування та профілактики колі-ентеритів.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

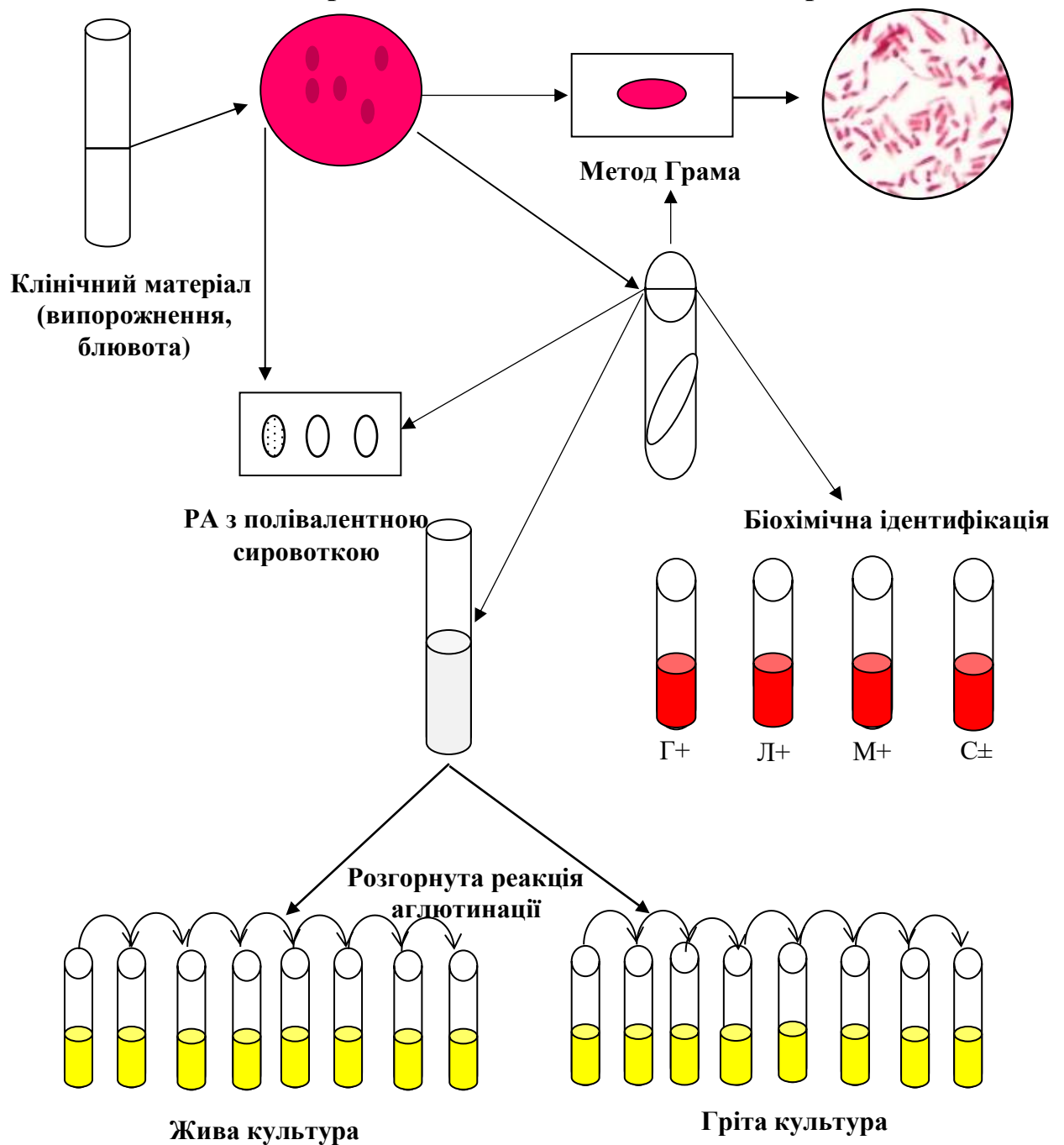
- Вивчити морфологічні, культуральні та біохімічні властивості ешерихій.
- Створити схему мікробіологічної діагностики колі-ентеритів.
- Ознайомитись з методикою серологічної ідентифікації копрокультури, яка була виділена від хворого з підозрою на колі-ентерит.
- Вивчити препарати, які використовуються для діагностики та терапії колі-ентеритів.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають морфологічні, культуральні, біохімічні та антигенні властивості ешерихій, проводять облік пробірочної реакції аглютинації, поставленої з метою серологічної ідентифікації виділеної копрокультури ЕПКП, роблять висновок. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу

Схема бактеріологічної діагностики колі-ентеритів



Фактори вірулентності *Escherichia coli*

	Збудник ешерихіозу	Фактори вірулентності
<i>Діарегенні E. coli</i>	Ентеротоксигенні <i>E. coli</i>	Термолабільний токсин (LT) Термостабільний токсин (ST) Колонізуючий фактор (фімбрії)
	Ентерогеморагічні <i>E. coli</i>	Шигаподібний токсин I, II (SLT-I, SLT-II) Колонізуючий фактор (фімбрії)
	Ентероінвазивні <i>E. coli</i>	Шигаподібний токсин I, II (SLT-I, SLT-II) Здатність проникати в епітеліальні клітини

	Ентеропатогенні <i>E. coli</i>	Адгезивний фактор до епітеліальних клітин
	<i>E. coli</i> , що спричиняють ураження сечовивідної системи	P- фімбрії
	<i>E. coli</i> , що спричиняють менінгіти	K-1 капсули

Питання для самоконтролю.

- Морфологічні, тинкторіальні, культуральні властивості *E.coli*.
- Антигенна будова *E.coli* і ЕПКП.
- Класифікація патогенних кишкових паличок.
- Токсини ЕПКП, їх характеристика.
- Особливості патогенезу колі-ентеритів, дизентерієподібних і холероподібних захворювань. Значення вікового фактору.
- Методи мікробіологічної діагностики ешерихіозів.
- Особливості і етапи бактеріологічної діагностики колі-ентеритів.
- Прискорені методи діагностики колі-ентеритів.

Препарати, що використовують для діагностики та лікування колі-ентеритів

Практичне заняття №28

Тема: «Сальмонели. Мікробіологічна діагностика черевного тифу, паратифів та сальмонельозних гастроентеритів»

Актуальність теми:

Сальмонельози – це зоонозно-антропонозне захворювання, що являє собою гостру кишкову інфекцію, відому під назвою “Харчова токсикоінфекція”, яку викликають бактерії роду *Salmonella* різних серологічних груп. Черевний тиф є антропонозним захворюванням і відрізняється за патогенезом від сальмонельозних гастроінфекцій. Сальмонельози широко розповсюджені у всіх країнах світу, характеризуються раптовістю виникнення, в 96-98% пов’язані зі споживанням харчових продуктів, контамінованих сальмонелами. Можливе масове захворювання. У зв’язку з цим необхідно знати біологічні властивості збудників сальмонельозів, щоб навчитися здійснювати мікробіологічну діагностику захворювань, спричинених ними.

Конкретні цілі:

- Вивчити біологічні властивості збудників сальмонельозних гастроентеритів, збудників черевного тифу, паратифів А та В.
- Ознайомитись з патогенезом та імуногенезом гострого сальмонельозного гастроентериту.
- Пояснювати патогенетичні закономірності інфекційного процесу, спричиненого *S.typhi*, *S.paratyphi* А та В.
- Створити схему мікробіологічної діагностики сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів А та В.
- Вивчити лікувально-профілактичні, діагностичні препарати, що використовують при гострих сальмонельозних гастроентеритах та черевному тифі, паратифів А та В.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Сальмонели <i>Salmonella</i>	Належать до родини <i>Enterobacteriaceae</i> , це грам-негативні, рухливі (перитрихи) палички, факультативні анаероби, хемоорганотрофи.
Сальмонельози – гострі сальмонельозні гастроентерити	Група гострих кишкових захворювань людей і тварин, обумовлених представниками роду <i>Salmonella</i> різних серологічних груп.
Черевний тиф і паратиф А та В	Це гострі інфекційні захворювання, які супроводжуються бактеріємією, тривалою постійною гарячкою, ураженням лімфатичних утворів кишечника, вираженою

	інтоксикацією; мають фекально-оральний механізм передачі.
Збудники черевного тифу і паратифів А та В	Збудниками черевного тифу є <i>Salmonella typhi</i> , паратифу А – <i>S.paratyphu</i> А, паратифу В – <i>S.schotmuelleri</i> .
Джерело інфекції черевного тифу	Джерелом інфекції являються хворі або бактеріоносії, які виділяють збудники у зовнішнє середовище з випорожненнями, сечею, слиною.
Ендо, Плоскірева	Диференційно-діагностичні середовища, які використовуються для виділення та первинної ідентифікації ентеробактерій; сальмонели на них виростають у вигляді безбарвних колоній, т.як вони лактозонегативні.
Вісмут-сульфіт агар	Щільне елективне середовище, використовується для виділення сальмонел, які утворюють на ньому колонії чорного кольору внаслідок відновлення металевого вісмуту.
Жовчний бульйон	Селективне середовище для сальмонел
Середовище Олькеницького	Трьохцукрове середовище з сечовиною для визначення ферментативних властивостей сальмонел
Антигенна будова і класифікація сальмонел	Сальмонели мають соматичний О-антиген, джгутиковий Н-антиген. <i>S.typhi</i> має К-антиген (Vi). Існує кілька класифікацій сальмонел. Класифікація Кауфмана-Уайта, в основі якої лежить поділ сальмонел на серогрупи за О-антигеном, а в середині серогрупи – на серовари за Н-антигеном. На сьогодні нараховується більше 2500 сероварів. Відповідно останній класифікації рід <i>Salmonella</i> складається із 2-х видів – виду <i>S.enterica</i> , в який входять всі сальмонели, збудники захворювань людини і тварин, і вид <i>S.bongori</i> , який ділиться на 10 сероварів.
О-антиген	Соматичний ліпополісахарид клітинної стінки. За цим антигеном збудники сальмонельозів належать до В, С, Д, Е серогруп.
Н-антиген	Джгутиковий, визначаються сальмонели, що відносяться до специфічної фази Н-антигенів: і, г, с, gm, eh.
Мікробіологічна діагностика черевного тифу	Враховуючи стадійність захворювання, матеріал для дослідження і метод діагностики визначається стадією протікання хвороби. В перші дні захворювання спостерігається бактеріємія, тому на I тижні захворювання і впродовж гарячкового періоду використовують метод виділення гемокультури. З кінця II тижня захворювання виділяється копро-, урино- і білі культура. Починаючи з II тижня проводять серологічні дослідження з метою визначення антитіл в сироватці хворої людини (реакція Відаля, РНГА).

Профілактика	Для специфічної профілактики черевного тифу використовують черевнотифозну сорбовану і черевнотифозну спиртову, збагачену Vi-антигеном, вакцину.
--------------	---

Теоретичні питання до заняття:

- Систематичне положення збудників сальмонельозів.
- Сальмонели – збудники черевного тифу і паратифу.
- Біологічні властивості сальмонел.
- Патогенез гострих сальмонельозних гастроентеритів та його особливості.
- Патогенез та імуногенез черевного тифу, паратифів А та В.
- Імунітет при сальмонельозній токсикоінфекції та черевному тифі, паратифах А і В.
- Принципи і методи мікробіологічної діагностики гострих сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів А і В.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Провести мікроскопічне дослідження демонстраційних препаратів з різних видів збудників гострих сальмонельозних гастроентеритів, збудників черевного тифу та паратифів А і В пофарбованих за Грамом. Зробити висновок про можливість їх диференціації за морфологічними і тинкторіальними властивостями.
- Вивчити культуральні і біохімічні властивості збудників сальмонельозів на середовищах Ендо, Плоскірева, Олькеницького, вісмут-сульфіт агарі, жовчному бульйоні, МПА.
- Здійснити серологічну ідентифікацію чистої культури сальмонел, що виділена від хворого з підозрою на гастроентерит, за допомогою реакції аглютинації на склі з О- і Н- сальмонельозними діагностичними сироватками. Визначити вид збудника відповідно класифікації Кауфмана-Уайта.
- Зробити облік біохімічних властивостей та здійснити серологічну ідентифікацію гемокультури, виділеної від хворого на черевний тиф.
- Створити схему мікробіологічної діагностики гострих сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу та паратифів А і В.
- Вивчити діагностичні препарати, що застосовуються при діагностиці сальмонельозної токсикоінфекції, черевного тифу та паратифів А і В.

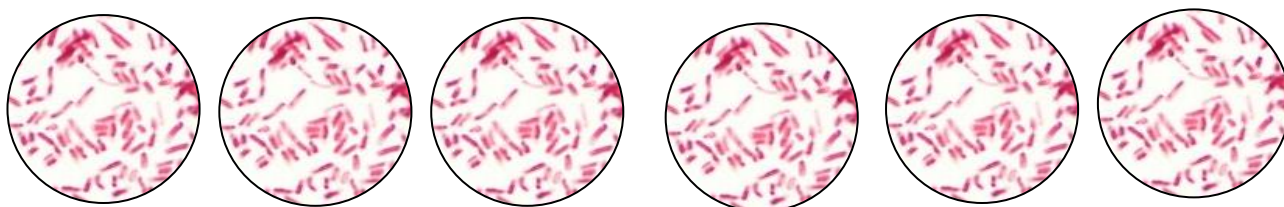
Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають різні біологічні властивості сальмонел – збудників гострих сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів А та В. Для знайомства з морфологічними властивостями проводять порівняльне мікроскопічне дослідження демонстраційних препаратів з різних видів сальмонел. Культуральні і біохімічні властивості вивчають на елективних та диференціально-діагностичних середовищах. Антигенні властивості визначають шляхом постановки реакції аглютинації з метою серологічної ідентифікації чистої копрокультури, виділеної від хворого з підозрою на гострий сальмонельозний

гастроентерит. Проводять серологічну ідентифікацію виділеної гемокультури, виділеної від хворого на черевний тиф. На підставі вивчення патогенезу цього захворювання і властивостей збудника створюють схему мікробіологічної діагностики. Вивчають імуногенез сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу та паратифів А і В, знайомляться з діагностичними та лікувально-профілактичними препаратами, що використовуються в медичній практиці при даних захворюваннях. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу.

Робота 1. Вивчити морфологічні і тинкторіальні властивості сальмонел (*S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. schottmuelleri*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*) на демонстраційних препаратах, пофарбованих за Грамом. Зробити висновок про можливість диференціації сальмонел за морфологічними і тинкторіальними властивостями.



S. typhi *S. paratyphi A* *S. schottmuelleri* *S. typhimurium* *S. enteritidis* *S. choleraesuis*

Робота 2. Вивчити біохімічні властивості тифо-паратифозних бактерій.

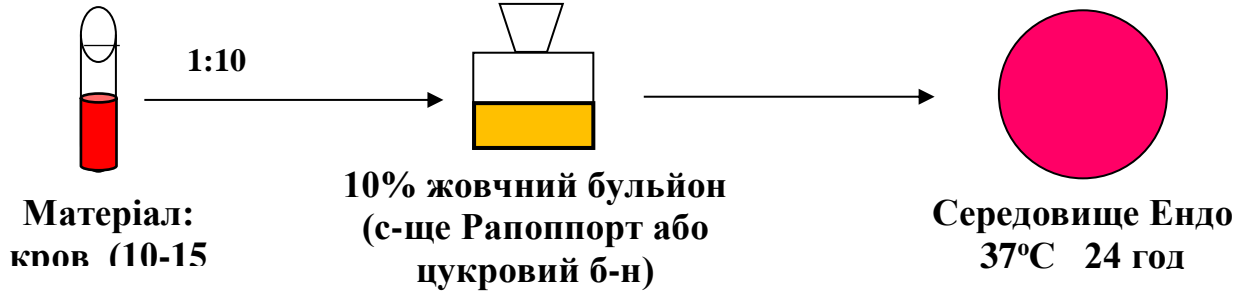
Вид	Ферментація					Утворення		
	Лакт.	Глюк.	Мальт	Маніт	Сахар.	Індол	NH ₃	H ₂ S
<i>S. typhi</i>	-	к	К	к	-	-	-	+
<i>S. paratyphi A</i>	-	кГ	кГ	кГ	-	-	-	-
<i>S. schottmuelleri</i>	-	кГ	кГ	кГ	-	-	+	+

Робота 3. Вивчити схему постановки і здійснити облік реакції Відаля, поставленої з метою серодіагностики черевного тифу та паратифів.

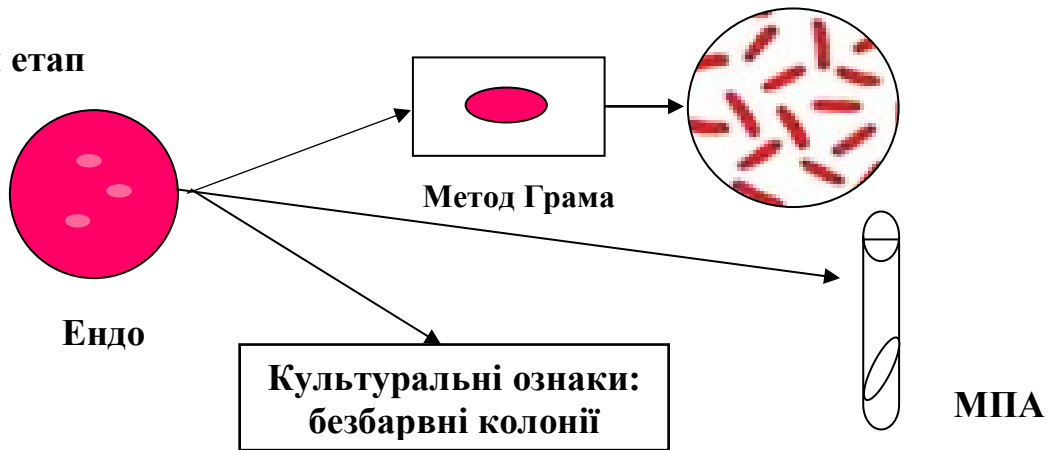
Назва діагностикому	Розведення сироватки					КД	КС
	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800		
<i>S. typhi</i>	++++	++++	++++	+++	+	-	-
<i>S. paratyphi A</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. schottmuelleri</i>	-	-	-	-	-	-	-

**Схема мікробіологічної діагностики черевного тифу, паратифів А і В.
Виділення гемокультури.**

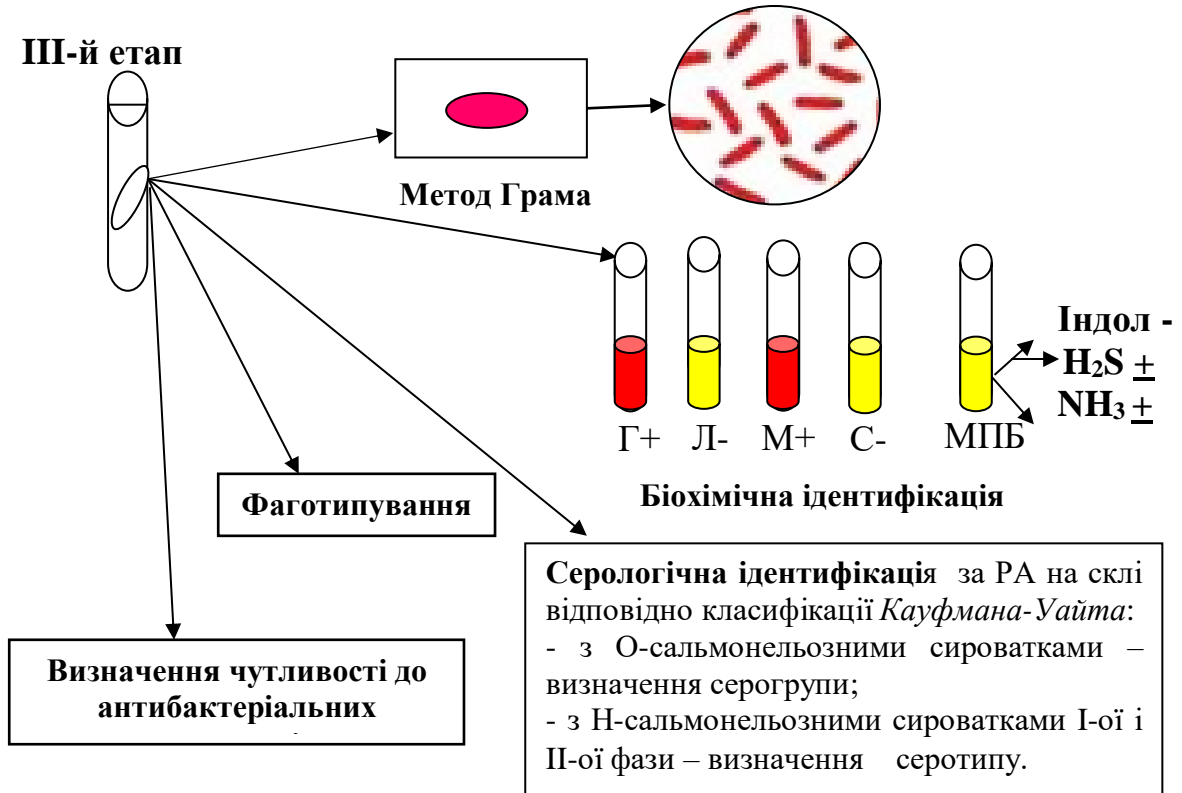
I-й етап



II-й етап



III-й етап



IV-ий етап

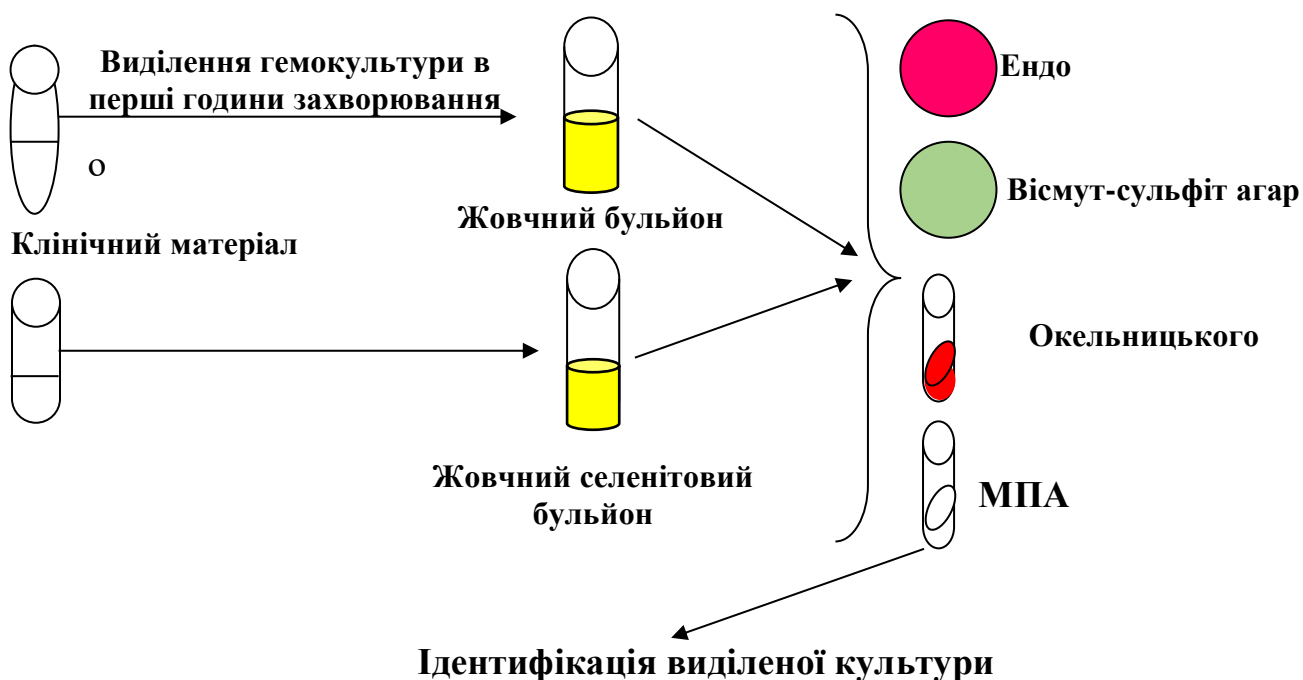
Остаточна відповідь

Робота 4. Вивчити культуральні і ферментативні властивості сальмонел – збудників гастроентеритів.

Характеристика росту				Олькеницького			Ряд Гіса			
МП А	Жовчий бульйон	Середовище Ендо	Вісмут-сульфіт Агар	Ферментація		Утворення лізису	Ферментація			
				Лактози	Сечовини		Глюкози	Маніту	Лактози	Сахарози
S форма колоній	Помутніння	Безбарвні колонії	Чорні колонії	–	–		Г	Г		

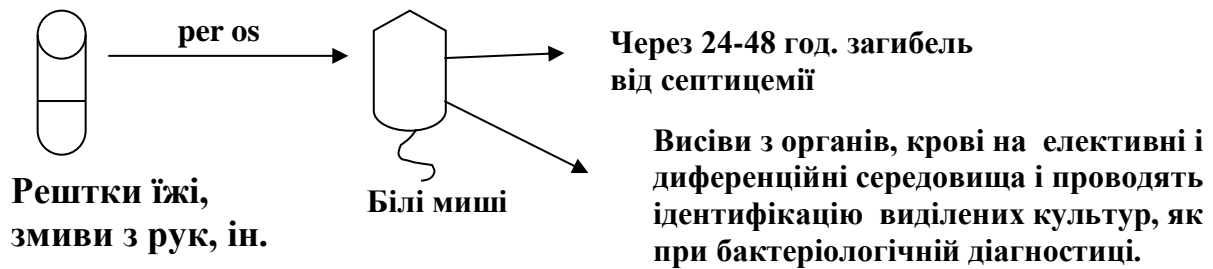
Схема мікробіологічної діагностики гострих сальмонельозних гастроентеритів

Бактеріологічна діагностика



1. За культуральними ознаками;
2. За морфологічними, тинкторіальними властивостями;
3. Біохімічна ідентифікація;
4. Серологічна ідентифікація за допомогою реакції аглютинації відповідно класифікації Кауфмана-Уайта:
 - А) З адсорбованою групспецифічною О-сироваткою (В, С, Д, Е);
 - Б) З адсорбованою О-сироваткою серогруп 4, 7, 9, 10;
 - В) З адсорбованими Н-сироватками (i, r, c, g, m, e, h);
5. Фаготипування

Біологічне дослідження для визначення джерела захворювання

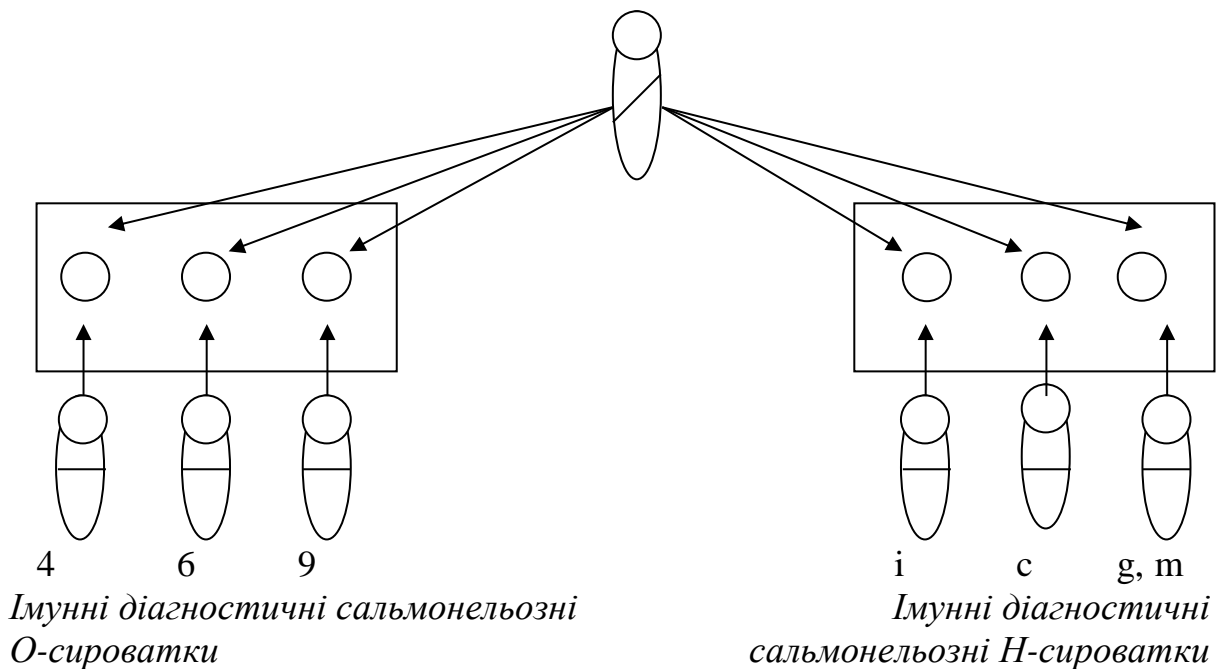


Серологічна діагностика

Можна здійснювати з перших днів захворювання з повторним дослідженням через 7-10 днів. Використовують реакцію аглютинації або РНГА з сальмонельозними полівалентними і групоспецифічними (А, В, С, Д, Е) діагностичними. Діагностичне значення має збільшення титрів антитіл в 2-4 рази.

Робота 4. Провести реакцію аглютинації для серологічної ідентифікації сальмонел, виділених від хворого з підозрою на гострий гастроентерит.

Виділена культура



Висновок:

Сучасна експрес-діагностика

Для лабораторної діагностики сальмонельозної інфекції застосовують різні молекулярно-генетичні методи: ПЛР; метод пульс-гель-електрофорезу (pulsed field-gel electrophoresis, PFGE) в основному форматі (лізис бактеріальних клітин з метою виділення неушкодженої хромосомної ДНК, видалення домішок, нарізання хромосомної ДНК відповідними рестриктазами, пульс-електрофорез фрагментів ДНК та їх візуалізація) — використовується як універсальний метод субтипуювання багатьох бактерій;

Метод пульс-гель-електрофорезу (PFGE) профілю рестрикційної ДНК широко використовується у Європейському Союзі при дослідженні міжнародних спалахів, зумовлених *S. enterica*.

Питання для самоконтролю

- Актуальність теми “Сальмонели – збудники гострих сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів”.
- Характеристика біологічних властивостей збудників сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів А і В. Що спільного і чим вони відрізняються від інших ентеробактерій.
- Які особливості патогенезу гострих сальмонельозних гастроентеритів, черевного тифу, паратифів?
- Імунітет при сальмонельозі. Як пояснити формування тривалого бактеріоносійства і появу повторних захворювань?
- Яким чином здійснюють мікробіологічну діагностику сальмонельозних гастроентеритів, як встановити джерело інфекції?
- Методи мікробіологічної діагностики черевного тифу, паратифів А і В.
- Препарати специфічної профілактики і лікування черевного тифу, паратифів А і В.

Практичне заняття №29

Тема: «Шигели. Мікробіологічна діагностика дизентерії»

Актуальність теми:

Кишкові інфекції і на сьогодні займають одне з провідних місць в інфекційній патології людини. Особливе місце серед них займає дизентерія. За даними ВООЗ у деяких країнах Азії, Африки та Америки на долю дизентерії припадає 54,7-75% загального числа кишкових інфекцій. За клінічними ознаками не можна диференціювати дизентерію від ешеріхіозів і тільки лабораторні дослідження дають можливість визначати етіологічний діагноз.

Усе це підтверджує актуальність вивчення мікробіологічної діагностики дизентерії в курсі спеціальної мікробіології.

Конкретні цілі:

- Інтерпретувати біологічні властивості шигел.
- Пояснювати патогенетичні закономірності дизентерії, викликані шигелами.
- Визначати методи мікробіологічної діагностики, етіотропної терапії та профілактики бактеріальної дизентерії.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Дизентерія	Це гостра чи хронічна інфекційна хвороба, що характеризується проносом, ураженням слизової оболонки товстої кишки та інтоксикацією організму.
Види шигел	<i>Sh.dysenteriae, Sh.flexneri, Sh.boydii, Sh.sonnei</i>
Методи діагностики дизентерії	Основним методом мікробіологічної діагностики дизентерії є бактеріологічний: посів матеріалу на середовище збагачення та агар Плоскірева, одержання чистої культури, вивчення її біохімічних властивостей, та її ідентифікація за допомогою полівалентних та моновалентних аглютинуючих сироваток. Об'ємну реакцію аглютинації з мікробними діагностикумами ставлять так само, як і реакцію Відаля. Більш достовірні результати отримують при постановці РНГА. Допоміжне значення для діагностики має також постановка алергічної внутрішньошкірної проби з дизентерином Цуверкалова
Профілактика і терапія дизентерії	Для лікування використовують антибіотики після визначення антибіотикограми, до комплексної терапії по епідпоказанням доцільно включати бактеріофаг. При дисбактеріозі – препарати пробіотиків для корекції

Теоретичні питання до заняття:

- Загальна характеристика роду шигел.
- Біологічні властивості шигел.
- Сучасна класифікація шигел.
- Фактори вірулентності шигел.
- Патогенез дизентерії.
- Імунітет.
- Методи мікробіологічної діагностики дизентерії.
- Профілактика і препарати для специфічної терапії.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Студенти мікроскопують препарати з чистих культур шигел (вивчення морфології).
- Вивчають ріст шигел на середовищах Ендо і Плоскірева.
- Вивчають ферментативну активність шигел на середовищі Гісса.
- Складають схему мікробіологічної діагностики бактеріальної дизентерії.
- Проводять серологічну ідентифікацію виділеної копрокультури в РА на склі.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають морфологічні, культуральні, біохімічні та серологічні властивості шигел, класифікацію шигел, патогенез дизентерії, методи мікробіологічної діагностики дизентерії, препарати специфічної профілактики. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу.

Робота 1. Вивчити морфологічні, тинкторіальних властивості шигел (*Sh.dysenteriae*, *Sh.flexneri*, *Sh.boydii*, *Sh.sonnei*) на демонстраційних препаратах, пофарбованих за Грамом.



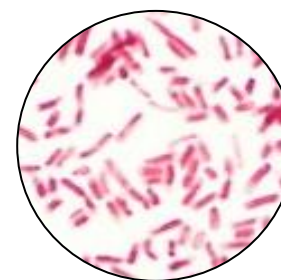
Sh. dysenteriae



Sh. flexneri



Sh. boydii



Sh. sonnei

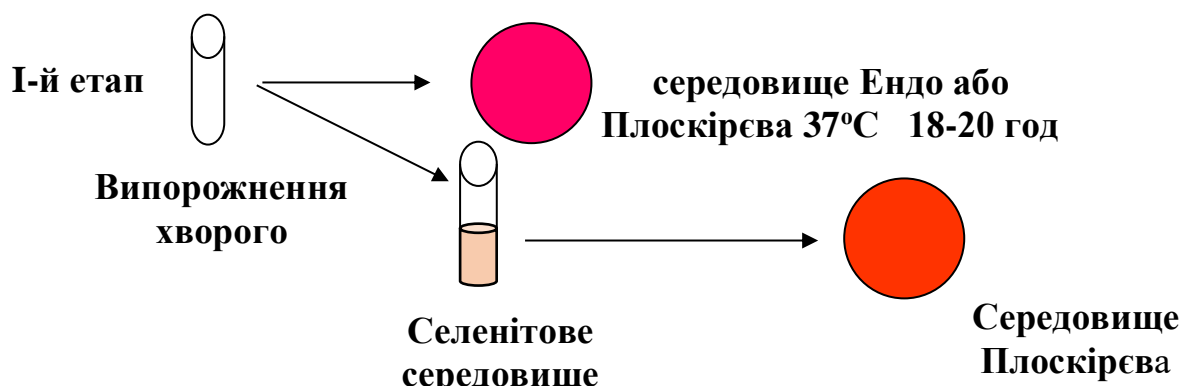
Робота 2. Вивчити біохімічні властивості шигел.

Вид бактерій	Ферментація вуглеводів				Утворення		Рух
	Глюкоза	Лактоза	Маніт	Сахароза	Індол	H ₂ S	
<i>Sh.dysenteriae</i> (12 сероварів)	К	-	-	-	-	-	-
<i>Sh.flexneri</i> (9 сероварів)	К	-	К / -	К / -	-	-	±
<i>Sh.boydii</i> (18 сероварів)	К	-	К	К	+	-	-
<i>Sh.sonnei</i> (1 серовар)	К	К (2 доба)	К	К	-	-	-

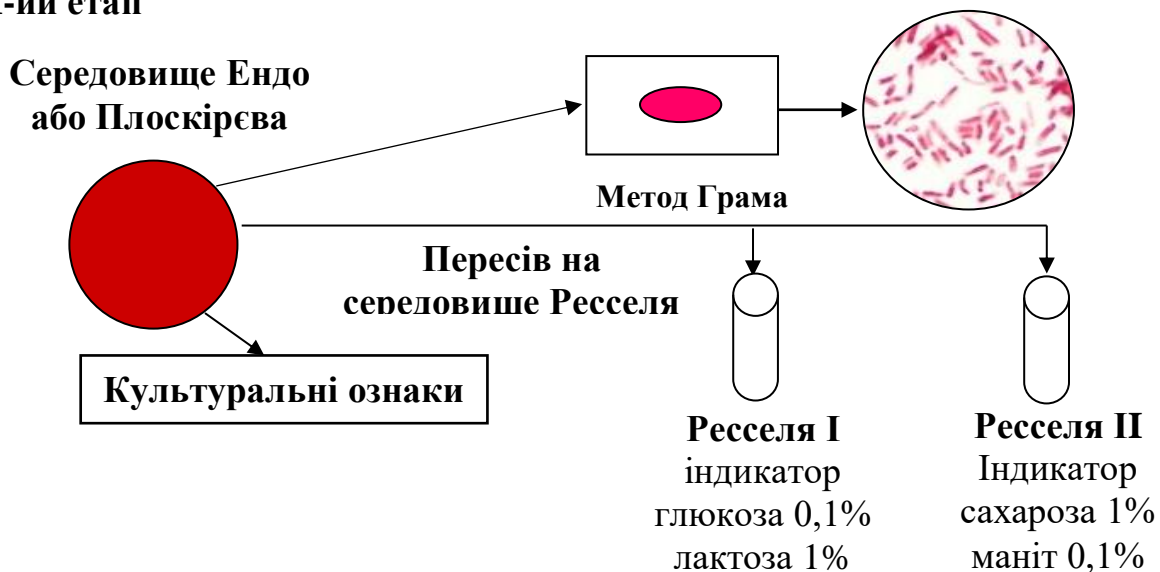
Методи діагностики дизентерії:

1. Бактеріоскопічний: РІФ

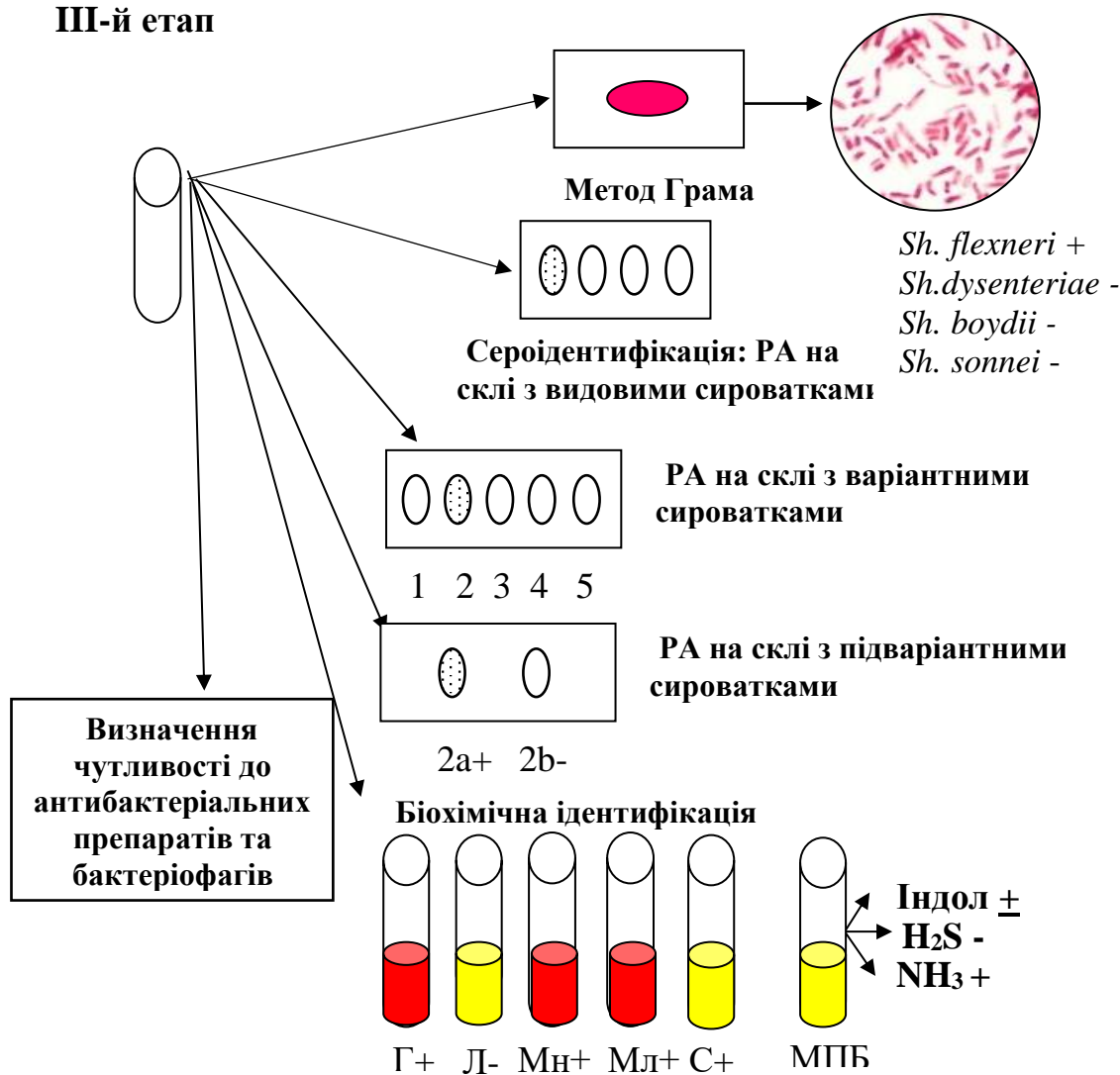
2. Бактеріологічний



II-ий етап



III-й етап



3. Серологічний: на 5-8 день захворювання використовують РНГА з еритроцитарними діагностикумами Флекснера і Зонне, титр яких 1:160 та вище. РНГА проводять повторно з інтервалом не менше 7 днів. Діагностичне значення має наростання титру АТ в 4 рази, яке виявляється з 10-12 дня захворювання. Діагностичним титром при дизентерії, яка спричинена *Sh. flexneri* вважають розведення 1:200, а *Sh. sonnei* – 1:100.

4. Алергологічний: постановка алергічної внутрішньо шкірної проби дизентериком Цуверкалова (допоміжне значення).

IV-ий етап

Остаточна відповідь

Питання для самоконтролю

- Морфологічні, культуральні, біохімічні властивості шигел.
- Антигенна будова шигел та класифікація шигел.
- Токсини шигел і їх характеристика.
- Патогенез дизентерії.
- Методи мікробіологічної діагностики дизентерії.
- Препарати для діагностики і лікування дизентерії.

Практичне заняття №30

Тема: «Вібріони. мікробіологічна діагностика холери»

Актуальність теми:

Холера – це антропонозна особливо небезпечна карантинна інфекція. Яка реєструється в багатьох країнах світу і спричиняє пандемії. Зараз світ живе в умовах 7-ї пандемії.

В патогенезі хвороби найважливіше – це порушення водно-електролітного балансу, що може призвести до швидкої загибелі організму. Для боротьби з цією інфекцією важливе значення має швидка мікробіологічна діагностика. В зв'язку з цим лікар будь-якої спеціальності повинен знати біологічні властивості збудника, вміти здійснювати мікробіологічну діагностику захворювання, оцінювати препарати для специфічної профілактики.

Конкретні цілі:

- Вивчити біологічні властивості холерного вібріона і класифікацію вібріонів
- Ознайомитись з патогенетичними та імунно-біологічними закономірностями холери
- Створити схему мікробіологічної діагностики холери і таблицю диференціації вібріонів
- Вивчити лікувально-профілактичні і діагностичні препарати, які використовуються при холері.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття.

Перелік	Визначення
Холерний вібріон	Бактерії з родини <i>Vibrionaceae</i> . Вібріони – активна ухливість (монотрих) факультативні анаероби (краще аероби), хемоорганотрофи, луголюбиві.
Холера	Антропонозна особливо небезпечна карантинна інфекція з важким перебігом, яка може спричиняти пандемії.
1% лужна пептонна вода лужний агар, середовище Д'єдонне, TCBS	Поживні середовища для культивування холерного вібріона
Тріада Хейберга	Біохімічна диференціація вібріонів по відношенню до манози, сахарози, арабінози,
Холероген	Екзотоксин холерного вібріона
Класичний вібріон Коха і вібріон Ель-Тор	Біовари холерного вібріону.

Інаба, Огава, Гікошіма	Серовари холерного вібріону.
Антеген О-І, О-139 (бенгал)	Антигени холерного вібріона
Бактеріофаги С-IV, Ель-Тор II групи	Індикаторні холерні бактеріофаги для диференціації біоварів вібріонів
Холероген-анатоксин	Вакцина для профілактики холери.

Теоретичні питання до заняття:

- Актуальність теми "Холерні вібріони".
- Систематичне положення і класифікація вібріонів.
- Біологічні властивості холерного вібріона.
- Патогенетичні та імунобіологічні закономірності холери.
- Методи мікробіологічної діагностики холери, диференційні ознаки вібріонів.
- Препарати для діагностики і специфічної профілактики холери.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Провести мікроскопічне дослідження демонстраційних препаратів збудників холери.
- Вивчити поживні середовища для культивування збудників холери – 1% лужна пептонна вода, лужний агар, середовище TCBS.
- Створити схему мікробіологічної діагностики холери.
- Вивчити диференційні тести при холері: хемовари за Хейбергом, пробу з бактеріофагами, поліміксином, гемоліз.
- Здійснити серологічну ідентифікацію вібріону за допомогою О-І сироватки, а також сироваток Огава, Інаба.
- Вивчити діагностичні препарати, що застосовуються при холері.

Зміст теми:

На практиці студенти вивчають морфологічні властивості вібріонів, поживні середовища для культивування збудника холери. На підставі вивчення патогенезу холери і властивостей збудника творять схему мікробіологічної діагностики захворювання. Здійснюють серологічну ідентифікацію вібріонів за допомогою О-І сироватки та сироватки Огава та Інаба. Знайомляться з діагностичними та лікувально-профілактичними препаратами, що використовують при холері. Виконані завдання студенти записують у протокол і підписують його у викладача

Рекомендації для оформлення протоколу

Студенти вносять до протоколу: малюнок мікроскопічного препарату холерного вібріона, малюнок з поживними середовищами для культивування холерного вібріона – 1% лужна пептонна вода, лужний агар, пробірки з манозою, сахарозою та арабінозою; облік реакції аглютинації з метою сероідентифікації виділених холерних вібріонів, схему лабораторної діагностики холери.

Робота 1. Вивчити морфологічні, тинкторіальні і біохімічні властивості холерного вібріону.



Фарбування за Грамом

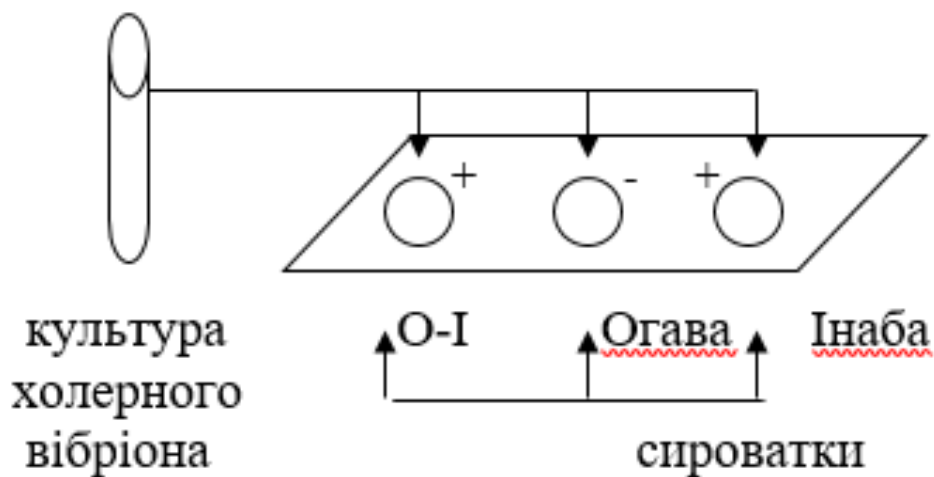
Vibrio cholerae
V. cholerae (Ель-Тор)
V. cholerae O-139 (Бенгал)

Біохімічна класифікація вібріонів за Хейбергом

Група	Маноза	Сахароза	Арабіноза
I	+	+	-
II	-	+	-
III	+	+	+
IV	-	+	+
V	+	-	-
VI	-	-	-
VII	+	-	+
VIII	-	-	+

Робота 2. серологічну ідентифікацію холерних вібріонів.

Здійснити



Висновок: Досліджуваний вібріон аглютинуює сироватку O-I та сироватку Інаба, тобто, культура належить до O-I групи, серовар Інаба

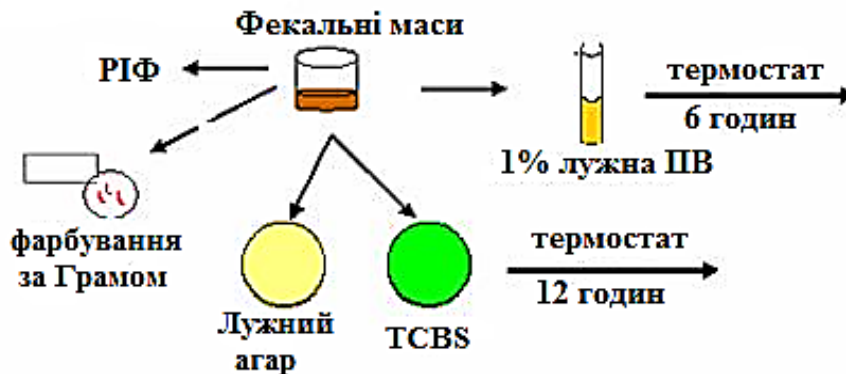
Робота 3. Вивчити диференційні ознаки біоварів холерного вібриону.

Ознаки	Біовари	
	<i>V. cholera cl.</i>	<i>V.cholerae, eltor</i>
1. Лізабельність фагами: холерним «С» «El-Tor»	+ -	- +
2. Аглютинація еритроцитів	-	+
3. Чутливість до 50 ОД поліміксину	+	-
4. Гемоліз еритроцитів барана	-	+

Робота 4. Схема мікробіологічної діагностики холери

1-ий день:

первинний посів



Через 6 годин

РА на склі з О-І холер. сиров.



Через 12 годин

РА на склі з типовими холер. сиров.



Облік результатів

Другий етап:

Через 6 годин вивчення зростання на ПВ – вібриони формують нижню блакитну плівку.

Третій етап:

Через 12-16 годин вивчення росту на TCBS – колонії S-форми, дрібні, жовті. На лужному агарі – S-форма «крапельки роси».

Тест на оксидазу: через 1-2 хвилини колонія синіє. Оксидаза присутня у холерних вібріонів, а у холероподібних – відсутня.

На підставі позитивної оксидазної проби і РА, при мікроскопії – Гр- палички у вигляді коми, видається орієнтовна відповідь.

Четвертий етап:

Через 12 годин культивування на ПВС: сахароза і лактоза розщеплюється до кислоти.

Постановка з чистою культурою диференціюючих тестів:

а) Тести родо-видової приналежності (*V. cholerae*). Визначення групи Хейберга – манноза і сахароза розщеплюється до кислоти.

б) Тести для визначення біовара:

Гемолізін позитивно: в пробірці «лакова кров» - культура Ель-Тор.

Гемолізін негативно: в пробірці осад еритроцитів, культура класичного вібріона.

Визначення чутливості до поліміксину: ріст є – культура не чутлива до поліміксину – біовар Ель-Тор; росту немає – культура чутлива до поліміксину – класичний біовар.

Визначення фаговарів: якщо лізис культури фагом IV типу (наявність «стерильного плями»), то це культура класичного вібріона; якщо відбувся лізис культури під впливом фага Ель-Тор, то біовар Ель-Тор.

Робота 5. Препарати для діагностики та терапії холери.

1. Холерні монофаги ХДФ-3, ХДФ-4, ХДФ-5.

2. Бактеріофаги діагностичні холерні ТСПВ – 1-7 (рідкі)

3. Сироватка діагностична холерна Огава (суха).

4. Сироватка діагностична холерна Інаба (суха)

5. Сироватка діагностична О-аглютинуюча

Питання для самоконтролю.

- Холерний вібріон – збудник антропонозної карантинної інфекції, характеристика пандемій.
- Характерні особливості (морфологічні і культуральні) збудника холери.
- Роль токсинів і ферментів патогенності при холері. Механізм дії холерогена.
- Особливості мікробіологічної діагностики холери.
- Найважливіші диференційні ознаки біоварів холерного вібріону
- Обґрунтування специфічної профілактики, характеристика препаратів.

Практичне заняття №31

Тема: «Коринебактерії. Мікробіологічна діагностика дифтерії»

Актуальність теми:

Дифтерія займає одне з провідних місць в інфекційній патології. У природі велика кількість коринебактерій, серед яких є безумовнопатогенні, умовнопатогенні і непатогенні. Проблема дифтерії є дуже актуальною у зв'язку з підйомом захворюваності серед дітей, а також дорослих.

Важливого значення набуває постановка етіологічного діагнозу дифтерії, визначення токсигенності виділених штамів і своєчасне проведення комплексу специфічного лікування хворих, екстренної профілактики захворювань в осередку інфекції. Не аби-яку роль відіграє і виявлення бактеріоносіїв токсигенних і нетоксигенних дифтерійних паличок з подальшою санацією носіїв для переривання ланцюгу епідемічного розповсюдження захворювання.

Усе це підтверджує актуальність вивчення теми в курсі спеціальної мікробіології.

Конкретні цілі:

- Вивчити біологічні властивості коринебактерій – збудників дифтерії
- Вивчити патогенетичні закономірності захворювань, спричинених патогенними коринебактеріями
- Визначити методи мікробіологічної діагностики, етіотропної терапії та профілактики дифтерії

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття.

Термін	Визначення
Дифтерія	Гостре інфекційне захворювання, що викликається токсигенними коринебактеріями дифтерії, передається повітряно-краплиним шляхом; характеризується місцевим фібринозним запаленням переважно слизових оболонок рото- і носоглотки, а також явищами загальної інтоксикації, ураженням серцево-судинної, нервової і видільної системи.
Біологічні особливості збудників дифтерії	Морфологія: Гр.+ палички. Використовують складний метод фарбування за Нейсером і простий за Лефлером. Характерна наявність на кінцях зерен валютину, які фарбуються більш інтенсивні чи в інший колір (явище метахромазії). Збудники розташовані під кутом один до одного. Характерно, явище поліморфізму. За культуральними і

	біохімічними властивостями виділяють 4 біовари: <i>gravis, mitis, intermedius, belfanti</i> .
Явище „фагової конверсії”	Потрапляння в бактеріальну клітину помірного бактеріофагу, який привносить в геном “tox + ген.” Клітина починає продукувати екзотоксин.
Визначення токсигенності дифтерійної палички в дослідах „in vitro”	Використовуються реакції преципітації в гелі . Антитоксин здатний дифундувати в гель, при наявності в гелі дифтерійного екзотоксину, який продукується при рості бактерій, утворюється лінія преципітації.
Мікробіологічна діагностика дифтерії	Мікробіологічна діагностика має вирішальне значення, при цьому особлива увага приділяється вивченню морфологічних, культуральних, біохімічних властивостей, визначенню біоварів і токсигенності дифтерійної палички. Особливо важливого значення набуває диференціація дифтерійної палички від непатогенних коринебактерій.
Специфічна профілактика	Використовують дифтерійний анатоксин при введенні, якого формується антитоксичний імунітет.

Теоретичні питання до заняття:

- Еволюція коринебактерій
- Біологічні властивості коринебактерії дифтерії
- Відмінності у властивостях коринебактерій дифтерії і коринеформних бактерій
- Відмінності у властивостях біоварів дифтерійної палички
- Токсинуотворення, генетичні детермінанти токсигенності. Вимірювання сили токсину.
- Фактори патогенності та патогенез дифтерії
- Методи мікробіологічної діагностики дифтерії
- Препарати для профілактики та лікування дифтерії

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити морфологічні властивості коринебактерій дифтерії.
- Визначення токсигенності дифтерійної палички *in vitro*.
- Занотувати таблиці: «Диференціація коринебактерій за біохімічними властивостями», «Диференціюючі ознаки біоварів збудника дифтерії».
- Створити схему мікробіологічної діагностики дифтерії
- Ознайомитись з методикою мікробіологічної діагностики дифтерійного бактеріоносійства
- Вивчити препарати, які використовуються для специфічної профілактики та терапії дифтерії.

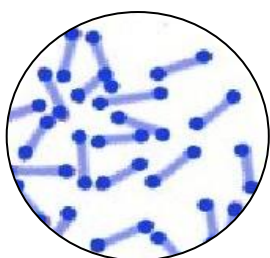
Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають морфологічні, культуральні, біохімічні, антигенні властивості коринебактерій дифтерії та їх фактори патогенності; відмінності біологічних властивостей варіантів збудників; здійснюють засів матеріалу з метою мікробіологічної діагностики дифтерійного бактеріоносійства. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують у викладача.

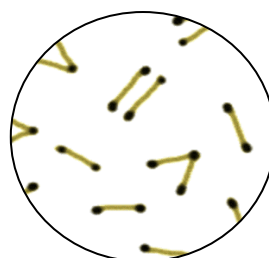
Рекомендації для оформлення протоколу

Завдання № 1. Вивчити морфологічні та тинкторіальні властивості збудника дифтерії.

Corynebacterium diphtheriae



Забарвлення синькою Лефлера



Забарвлення методом Нейссера

Висновок: для коринебактерій дифтерії характерні наявність зерен валютину на кінцях, явище метахромазії, розташування збудників під кутом один до одного, поліморфізм.

Завдання №2. Мікробіологічна діагностика дифтерії:

- 1 день Забір матеріалу (слиз з зіву і носу, плівки з ураженої слизової)
Бактеріоскопічне дослідження мазків (фарбування за Грамом, Лефлером, нейсером, коріфосфіном) – **попередній діагноз.**
- 2 день Вивчення характеру колоній. Пересів на згорнуту сироватку для виділення чистої культури.
- 3 день Ідентифікація культури: посів на ряд Гіса; визначення гемолізу; визначення токсигенності; проба на цистіназу; проба на уреазу.
- 4 день **Остаточний діагноз**

Завдання №3. Властивості коринебактерій.

Диференціація коринебактерій за біохімічними властивостями

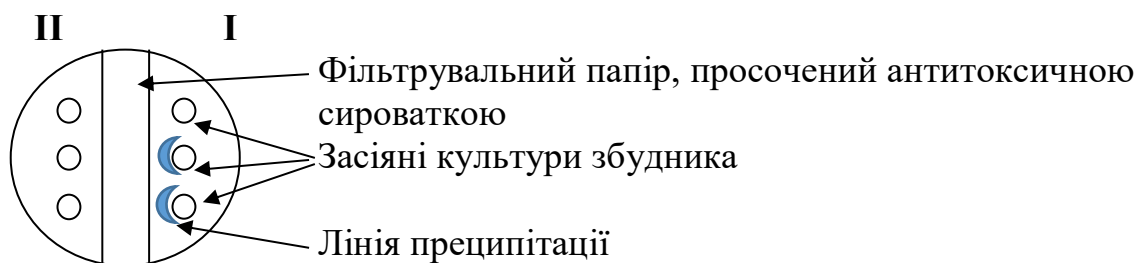
Види коринебактерій	Гемоліз	Ф-ція сахарози	Поновлення нітратів	Желатин аза	Уреаза	Цистіназа	Синтез токсину
<i>C. diphtheriae</i>	+	-	+	-	-	+	+ (- -)
<i>C. pseudo-diphthericum (hofmannii)</i>	-	-	+	-	+	-	--
<i>C. xerosis</i>	-	+	+	-	-	-	--
<i>C. ulcerans</i>	+	-	-	+	+	+	--

Диференціюючі ознаки біоварів збудника дифтерії

	Токсигенність	САМР-тест	Ферментація						Поновлення нітратів в нітрити
			Цистину	Піразинаміду	Глюкози	Сахарози	Крохмало	Сечовини	
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>gravis</i>	V	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>mitis</i>	V	-	+	-	+	-	-	-	+
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>intermedius</i>	-/+*	-	+	-	+	-	-	-	+
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>belfanti</i>	-/+*	-	+	-	+	-	-	-	-

Примітка: * рідко бувають токсигенні;
 ** можуть містити тох-ген, V-токсигенна частина штамів;
 *** інверсована САМР-реакція (пригнічення гемолізу).

Завдання №4 Реакція преципітації в гелі з метою визначення токсигенності дифтерійної палички (демонстрація).



Чашка Петрі з гелем

Висновок: якщо збудник продукує екзотоксин, то в гелі спостерігаються лінії преципітації (I частина чашки), які є результатом взаємодії екзотоксину з антитоксинами. В контролі лінії відсутні, що свідчить про відсутність екзотоксину.

Завдання №6

Перелік профілактичних і лікувальних засобів.

- АД-м-анатоксин (анатоксин дифтерійний очищений, адсорбований зі зменшеним вмістом антигену, рідкий)
- АДП-анатоксин (анатоксин дифтерійно-правцевий очищений, адсорбований рідкий)
- АДП-м-анатоксин (анатоксин дифтерійно-правцевий очищений, адсорбований із зменшеним вмістом антигенів, рідкий)
- АКДП-адсорбована кашлюково-дифтерійно-правцева вакцина.

- *Д.Т. КОК* (адсорбована вакцина для профілактики дифтерії, кашлюку та правця).
- *Тетракок* (комбінована вакцина для профілактики дифтерії кашлюку, правця і поліомієліту).
- *Сироватка протидифтерійна, коняча, очищена, концентрована, рідка.*

Питання для самоконтролю.

- Етапи вивчення збудника дифтерії.
- Коринебактерії, біологічні властивості.
- Еволюція коринебактерій.
- Диференціація патогенних від інших коринебактерій.
- Біовари дифтерійних паличок, їх властивості.
- Токсинутворення. Характеристика екзотоксину. Генетичні детермінанти токсигенності. Вимірювання сили екзотоксину.
- Фактори патогенності коринебактерій. Патогенез дифтерії, імунітет
- Методи мікробіологічної діагностики дифтерії та дифтерійного бактеріоносійства. Визначення антитоксичного імунітету.
- Теоретичні основи специфічної профілактики дифтерії, протидифтерійні препарати. Лікування дифтерії.

Практичне заняття №32

Тема: «Мікобактерії. Мікробіологічна діагностика туберкульозу»

Актуальність теми:

Рід *Mycobacterium* включає більше 50 видів та підвидів мікобактерій – патогенних, умовно-патогенних та сапрофітів, широко поширених в природі. Не менше 25 із них відіграють важливу роль в патології людини, є збудниками туберкульозу, мікобактеріозів та лепри (прокази). Туберкульоз – інфекційне захворювання, що спричинене мікобактеріями туберкульозу і характеризується розвитком гранулом в уражених тканинах, поліморфізмом клінічних ознак – інтоксикаційним і/або локальними синдромами. Залежно від локалізації уражень виділяють туберкульоз легень, шкіри, лімфатичних вузлів, мозкових оболонок, кісток і суглобів, органів сечостатевої системи і черевної порожнини. Для сучасного періоду характерне збільшення захворюваності, тяжкий перебіг, підвищення смертності і поява значної кількості штамів, резистентних до багатьох протитуберкульозних препаратів.

Конкретні цілі:

- Створити схему мікробіологічної діагностики туберкульозу.
- Вивчити морфологічні, тинкторіальні, культуральні властивості мікобактерій туберкульозу і середовища для їх культивування.
- Здійснити бактеріоскопічний метод діагностики туберкульозу.
- Вивчити препарати для діагностики, специфічної профілактики та терапії туберкульозу.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Туберкульоз	Інфекційне захворювання, що спричинене мікобактеріями туберкульозу і характеризується розвитком гранулом в уражених тканинах, поліморфізмом клінічних ознак – інтоксикаційним і/або локальними синдромами. Залежно від локалізації уражень виділяють туберкульоз легень, шкіри, лімфатичних вузлів, мозкових оболонок, кісток і суглобів, органів сечостатевої системи і черевної порожнини.
Туберкулін	Р. Кох у 1890р. добув із туберкульозних мікобактерій туберкулін. Є кілька препаратів туберкуліну. Старий туберкулін Коха – АТК (Alt tuberculin Koch) це фільтрат 5-6-тижневої культури мікобактерій у гліцериновому бульйоні, згущеному до 1/10 початкового об'єму. Новий туберкулін Коха – висушені мікобактерії туберкульозу, розтерті в 50%

	гліцерині до утворення гомогенної маси. Туберкулін із мікобактерій бичачого виду містить протеїни, жирні кислоти, ліпіди, нейтральні жири, кристалічний алкоголь. Крім того, є препарати туберкуліну, вільного від баластних речовин, – PPD (Purified Protein Derivative) і PT (Purificatum Tuberculinum). ППД випускають у двох формах: сухий очищений туберкулін по 50000 ТО в ампулі і ППД у стандартному розведенні в ампулах по 3 мл. У 0,1 мл розчину міститься одна доза (2 ТО).
БЦЖ	Вакцина, отримана А. Кальметом та Гереном з ослабленого багатолітнім пересівом штаму <i>M. bovis</i> . Застосовується для активної імунізації проти туберкульозу.
Проба Манту.	Специфічний тестом для виявлення алергізації організму збудником туберкульозу. Його використовують для визначення інфікованості населення туберкульозом, масового обстеження на туберкульоз дітей і підлітків, відбору осіб, яким потрібно проводити ревакцинацію, перевірки її ефективності, а також із метою визначення активності туберкульозного процесу. Для постановки проби використовують туберкулін.

Теоретичні питання до заняття:

- Мікобактерії, історія відкриття та вивчення.
- Таксономічне положення мікобактерій.
- Морфологічні, тинкторіальні, культуральні властивості збудника туберкульозу.
- Фактори патогенності збудника туберкульозу.
- Патогенетичні та імунологічні особливості туберкульозу.
- Лабораторні методи діагностики туберкульозу.
- Препарати для лікування та специфічної профілактики туберкульозу.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити культуральні властивості збудників туберкульозу та середовища для їх культивування.
- Здійснити бактеріоскопічну діагностику туберкульозу шляхом фарбування препаратів за методом Ціля-Нільсена та демонстраційних препаратів.
- Засвоїти методи мікробіологічної діагностики туберкульозу.
- Засвоїти класифікацію мікобактерій.
- Вивчити препарати для специфічної профілактики, діагностики та лікування туберкульозу.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти розглядають таксономічне положення мікобактерій, їх біологічні властивості; обговорюють патогенетичні та імунологічні особливості туберкульозу, лабораторні методи діагностики туберкульозу; здійснюють бактеріоскопічну діагностику туберкульозу, вивчають

поживні середовища для культивування мікобактерій, препарати для специфічної профілактики, діагностики та лікування туберкульозу, класифікацію мікобактерій, методи мікробіологічної діагностики туберкульозу. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу.

Завдання 1. Ознайомитись та зафарбувати мазок з матеріалу хворого за методом Цілем-Нільсоном, зробити малюнок.

Метод забарвлення за Цілем-Нільсоном.

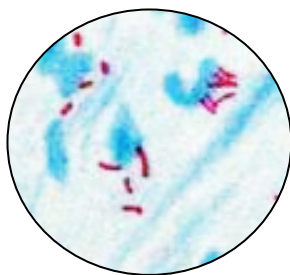
Остаточний варіант автори запропонували в 1884 році. Техніка забарвлення включає декілька етапів:

1. На фіксований мазок над полум'ям пальника накладають фільтрувальний папірець, наливають на нього фуксин Ціля і фарбують тричі підігрівачи до появи парів (але не доводячи до кипіння); після чого препарат з фарбником залишають на 1-2 хвилини для охолодження, зливають фарбу, знімають папірець. Промивають водою.

2. Препарат знебарвлюють 5% сірчаною або соляною кислотою до появи жовтуватого відтінку (10-30 сек) і кілька разів промивають водою.

3. Додатково фарбують мазок метиленовою синькою Леффлера, промивають водою, висушують і досліджують під мікроскопом.

Мікроскопічна картина: на загальному синьому (блакитному) фоні кислотостійкі бактерії виглядають рубіново-червоними



Туберкульозні палички у мокротинні
(фарбування за Цілем-Нільсоном)

Методи мікробіологічної діагностики туберкульозу

Метод	Дослідження		
Бактеріоскопічний	Матеріал харкотиння, ексудат	Методи збагачення (флотації, гомогенізації)	Мікроскопія (фарбування за Цілем-Нільсоном)
	Люмінесцентна мікроскопія (фарбування аураміно-родаміном)		

Бактеріологічний	Передпосівна обробка матеріалу	Посів на картопляно-гліцерінові середовища; середовища
	Метод мікрокультур Посів на цитратно- кров'яне середовище на 3-7днів	Мікроскопія (фарбування за Цілем-Нільсена)
Біологічний	Після попередньої обробки H ₂ SO ₄ та відмивання фіз. розчином заражають морську свинку	Макро- та мікроскопія органів тварини.
Серологічний	Матеріал: сироватка хворого	а) РЗК б) (РНГА)
Алергічні проби	<ul style="list-style-type: none"> • Реакція Моро; • Реакція Пірке; • Реакція Манту. 	
Молекулярно-генетичний	GeneXpert, Hain-test , Loop-mediated isothermal amplification (LAMP), Molecular Beacon	

Класифікація мікобактерій за патогенністю для людини

1. Патогенні мікобактерії:

M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum, M. avium, M. leprae

2. Умовно-патогенні:

M. kansasii, M. ulcerans, M. marinum, M. fortuitum, M. scrofulaceum, M. chelonii, M. xenopi

3. Кислотостійкі мікроорганізми, не патогенні для людей і тварин.

Класифікація мікобактерій за характером пігментоутворення

1. Фотохромогенні (пігмент при світлі): *M. kansasii*

2. Скотохромогенні (пігмент при світлі і в темноті): *M. scrofulaceum*

3. Нехромогенні (частіше безколірні): *M. avium*

Класифікація мікобактерій по швидкості росту

1. Швидкоростучі – візуально великі колонії з'являються раніше 7-го дня інкубації: *M. chelonii; M. paratuberculosis;*

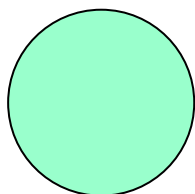
2. Повільноростучі – візуально великі колонії з'являються після 7-го дня інкубації і пізніше: *M. tuberculosis; M. africanum; M. scrofulaceum;*

3. Мікобактерії, які вимагають спеціальних умов для росту (не ростуть на звичайних поживних середовищах): *M. lepraemurium; M. leprae.*

Туберкульозні палички у мокротинні (фарбування за Цілем-Нільсеном)

Робота № 2. Вивчити поживні середовища для культивування *Mycobacterium tuberculosis* (демонстрація; зробіть малюнок).

1. Середовище Левенштейна-Йенсена
2. Середовище Фінна-П.



Препарати для діагностики, лікування, профілактики туберкульозу.

1. Препарат для туберкулінодіагностики: туберкулін.

2. Препарати для лікування туберкульозу:

- **I ряд (основні):** ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, стрептоміцин
 - **II ряд (резервні):** етіонамід, протіонамід, циклосерин, канаміцин, амікацин, капреоміцин, ПАСК, фторхінолони
- 3. Препарати для специфічної профілактики туберкульозу:** БЦЖ.

Питання для самоконтролю

- Історія відкриття і вивчення збудника туберкульозу.
- Класифікація мікобактерій.
- Біологічні властивості збудника туберкульозу.
- Патогенетичні та імунобіологічні особливості туберкульозу.
- Фактори патогенності мікобактерій туберкульозу.
- Препарати для специфічної профілактики туберкульозу.
- Методи мікробіологічної діагностики туберкульозу.
- Диференціація мікобактерій від умовно-патогенних і сапрофітних мікобактерій, а також диференціація видів збудника туберкульозу.

Практичне заняття №33

Тема: «Збудники анаеробних інфекцій. Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій»

Актуальність теми:

Патогенні спороутворюючі анаероби належать до родини *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*. До них входять збудники правця, ботулізму, анаеробної інфекції ран, псевдомембранозного виразкового коліту. Це крупні поліморфні грампозитивні бактерії; більшість видів рухливі (перитрихи), утворюють спори, які за діаметром перевищують діаметр вегетативної форми, з чого походить назва (*closter* - гр. – веретено). Більшість штамів ростуть в анаеробних умовах і мають різну ферментативну активність. Патогенні види анаеробів продукують екзотоксин, вони постійно живуть у товстому кишківнику тварин і людини, з випорожненнями яких виділяються у зовнішнє середовище; у вигляді спор довго (роками) зберігаються в ґрунті, морській і прісній воді.

Конкретні цілі:

- Вивчити морфологічні та тинкторіальні властивості основних представників патогенних клостридій.
- Вивчити біологічні властивості збудників правця, ботулізму, анаеробної ранової інфекції.
- Засвоїти схему мікробіологічної діагностики анаеробної ранової інфекції, правця, ботулізму.
- Здійснити окремі етапи мікробіологічної діагностики клостридіозів (мікроскопію препаратів, облік прискореної діагностики анаеробної інфекції ран).
- Вивчити препарати для діагностики, специфічної профілактики та терапії клостридіозів.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №25.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент при підготовці до заняття:

Термін	Визначення
Облігатні анаероби	Бактерії, для яких наявність молекулярного кисню шкідлива.
Факультативні анаероби	Бактерії, які можуть розмножуватись як при наявності, так і при відсутності молекулярного кисню.
Мікроаерофіли	Бактерії, які розмножуються при низьких концентраціях кисню; висока концентрація кисню хоч і не вбиває бактерій, але затримує їх ріст.

Правець (стовбняк)	Гостра ранова інфекція людей і тварин, що розвивається в результаті уражень токсином токсином збудника синаптичної передачі з холіноміметичним ефектом, проявляється розвитком тонічних і тетанічних скорочень м'язів.
Ботулізм	Часто фатальна токсикоінфекція, яка виникає внаслідок вживання продуктів, що містять токсини <i>Clostridium botulinum</i> , специфічними ураженнями синаптичної передачі з холінолітичним ефектом.
Анаеробна газова інфекція (кlostридіальний міозит, газова гангрена)	Гостра, тяжка, полі- етіологічна ранова інфекція, яку викликають бактерії роду <i>Clostridium</i> в асоціації між собою і умовно-патогенними мікроорганізмами.
Середовища для культивування анаеробних мікроорганізмів	Середовище Кітта-Тароцці, кров'яний цукровий агар Цейслера, середовище Вільсон-Блера, середовище Врублевського.

Теоретичні питання до заняття:

- Загальна характеристика бактерій роду кlostридій.
- Біологічні властивості збудників правця, ботулізму та анаеробної інфекції ран.
- Особливості патогенезу правця, ботулізму та анаеробної інфекції ран.
- Принципи мікробіологічної діагностики кlostридіозів; матеріал, який необхідно досліджувати при даних захворюваннях.
- Імунітет при кlostридіозах, принципи специфічної терапії та профілактики при даних захворюваннях. Препарати.
- Кlostридії – збудники харчових токсикоінфекцій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити морфологічні та тинкторіальні властивості основних представників патогенних кlostридій.
- Ознайомитись зі схемами мікробіологічної діагностики ботулізму, правця,
- Здійснити облік прискореної діагностики анаеробної ранової інфекції.
- Вивчити препарати для діагностики, специфічної профілактики та терапії кlostридіозів.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають загальну характеристику бактерій роду кlostридій, морфологічні та тинкторіальні властивості основних представників патогенних кlostридій; розглядають біологічні властивості збудників правця, ботулізму та анаеробної інфекції ран та особливості патогенезу захворювань, що ними викликаються; засвоюють схему мікробіологічної діагностики анаеробної інфекції; розпочинають прискорену діагностику

анаеробної ранової інфекції; вивчають препарати для діагностики, специфічної профілактики та терапії клостридіозів. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

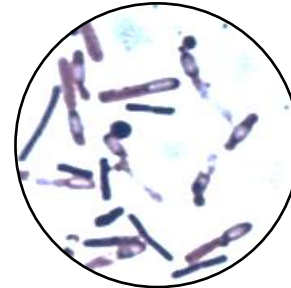
Рекомендації для оформлення протоколу

Основні анаеробні мікроби, важливі для медичної мікробіології.

Спороутворюючі:	
Грампозитивні бактерії	
• <i>Clostridium</i> (біля 100 видів)	
Неспороутворюючі:	
Грампозитивні бактерії	Грамнегативні бактерії і спіральні форми
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Actinomyces</i> • <i>Bifidobacterium</i> • <i>Lactobacillus</i> • <i>Propionibacterium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Prevotella</i> • <i>Campilobacter</i> • <i>Bacteroides</i> (> 40 видів) • <i>Leptotrichia</i> • <i>Fusobacterium</i> • <i>Porphyromonas</i> • <i>Borellia</i> • <i>Treponema</i>
Грам позитивні коки	Грамнегативні коки
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Peptococcus</i> • <i>Peptostreptococcus</i> • <i>Sarcina</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Veilonella</i>

Робота №1. Ознайомитися з морфологічними і тинкториальними властивостями клостридій (демонстрація; зробити малюнок).

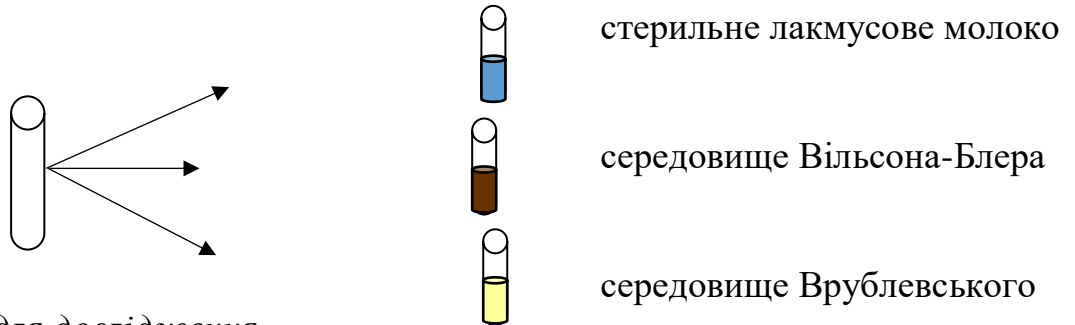
Мікроскопія препаратів, зафарбованих за Грамом.



<i>Clostridium tetani</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
Спори округлі, термінальні, «барабанні палички»	Спори овальні, субтермінальні «тенісні ракетки»	Спори овальні, центральні чи субтермінальні

Робота №2. Здійснити облік прискореної діагностики анаеробної ранової інфекції.

В основі прискорена діагностики- висока ферментативна активність основного збудника – *C. perfringens*. Зміни на середовищах швидкі(3-6 годин) та інтенсивні.



Матеріал для дослідження

Висновок:

Схема мікробіологічного дослідження при ботулізмі

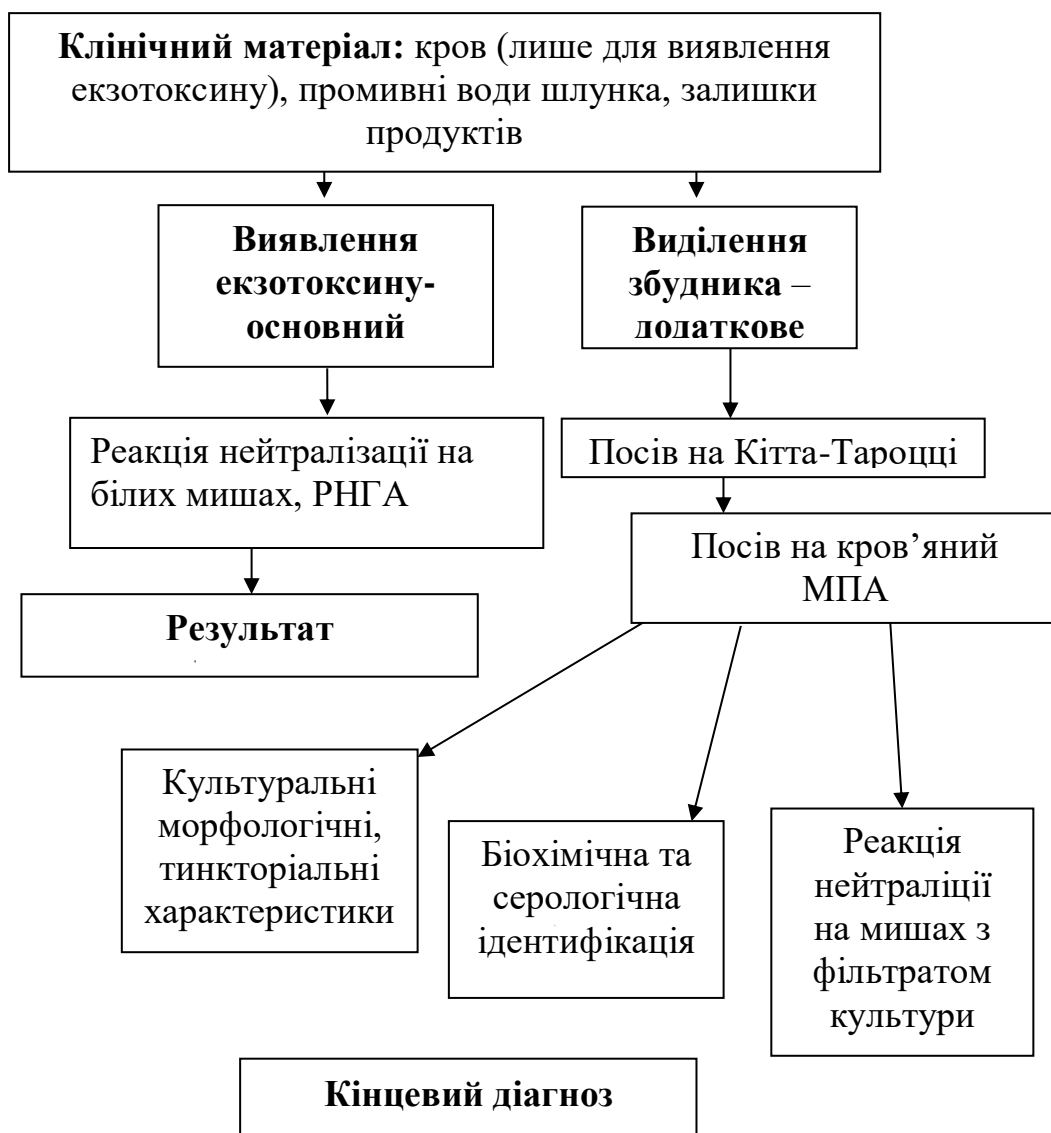


Схема мікробіологічного дослідження при газовій гангрени

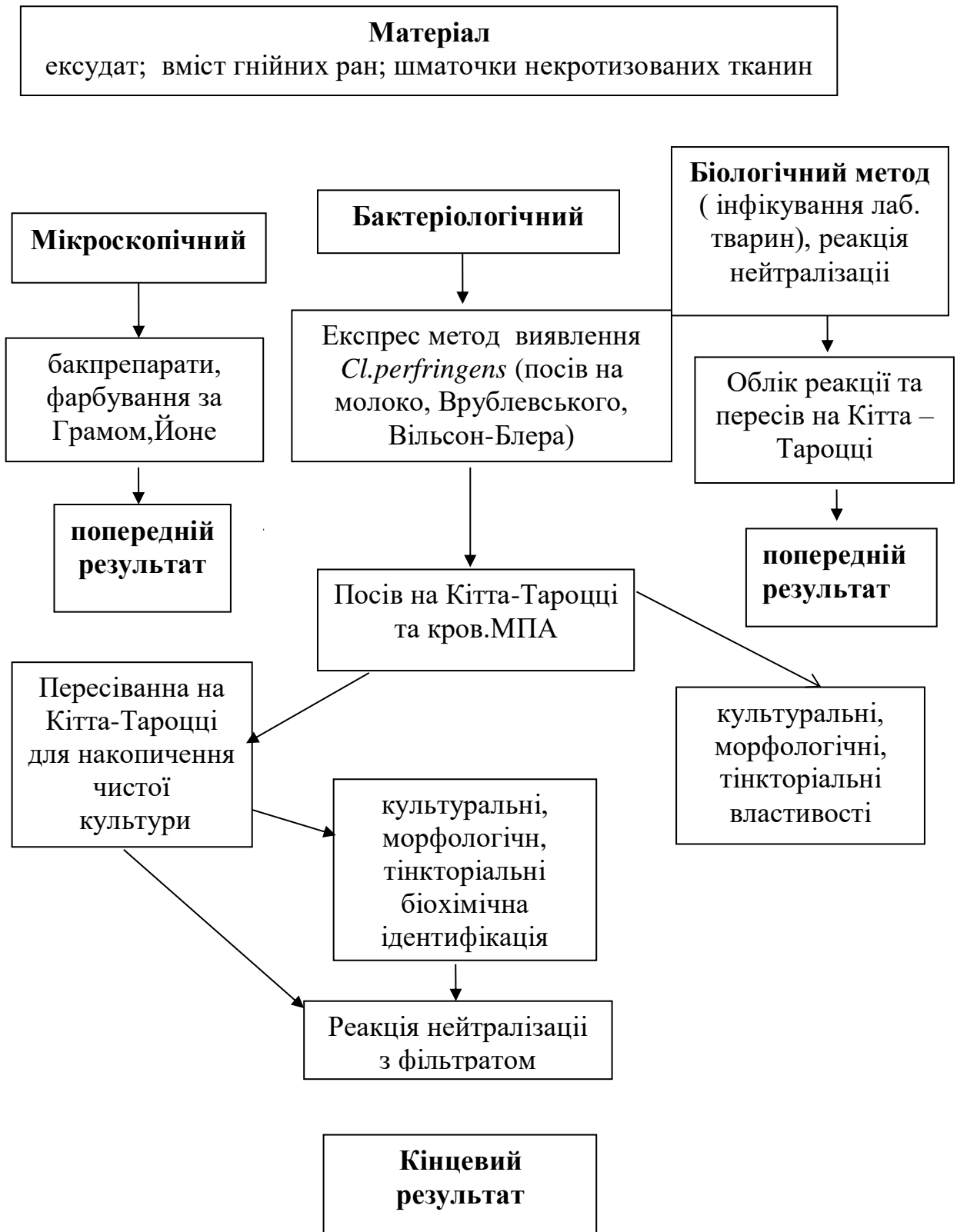
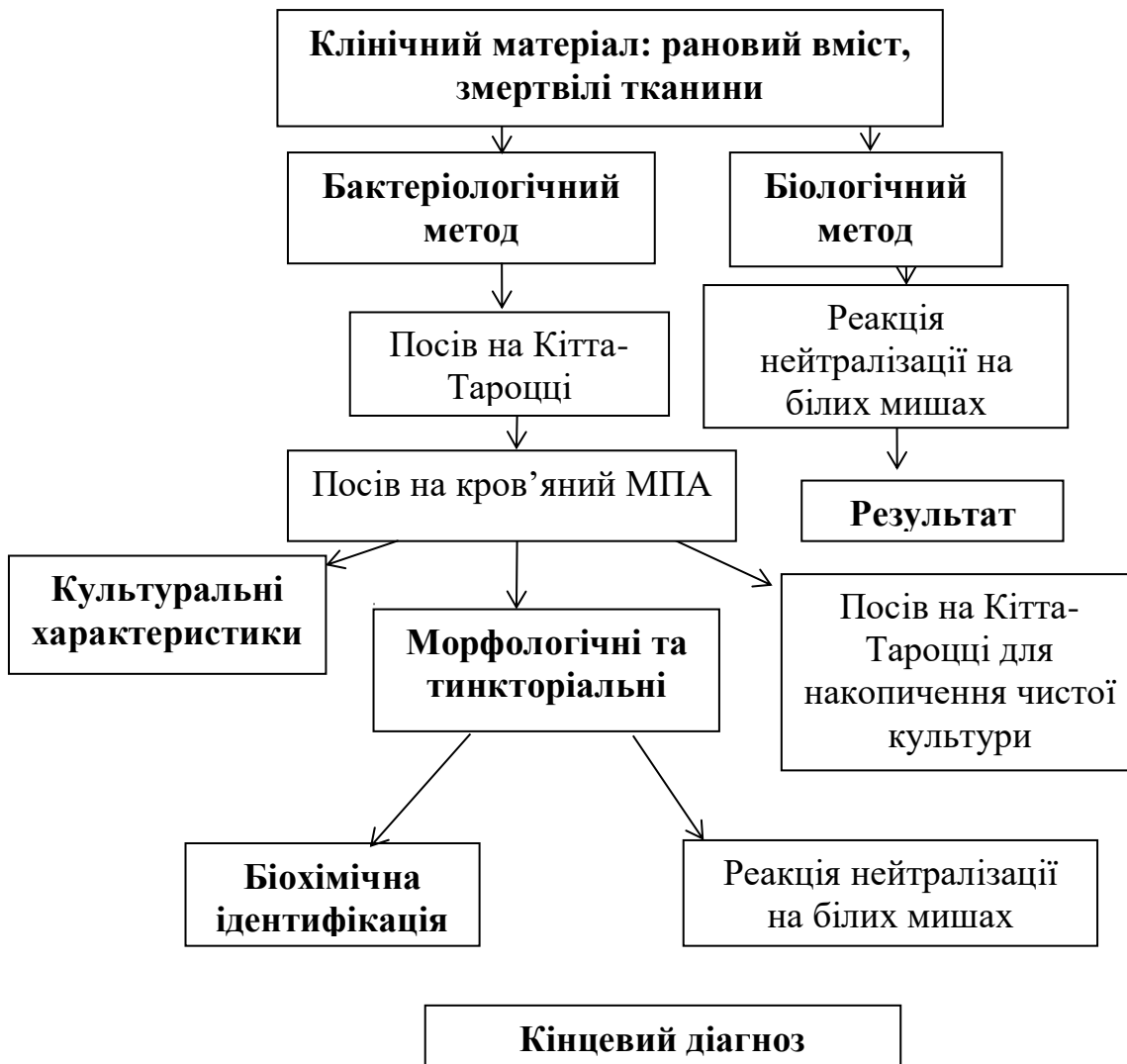


Схема мікробіологічного дослідження при правці



Демонстраційні препарати для специфічної профілактики, діагностики та терапії клостридіозів:

- АКДП;
- Правцевий анатоксин;
- Протиправцева сироватка;
- Протиботуліністичні сироватки;
- Протигангренозні сироватки.

Питання для самоконтролю:

- Історія відкриття збудників анаеробних інфекцій.
- Класифікація анаеробів.
- Морфологічні та біологічні властивості збудників правцю, ботулізму, анаеробної інфекції ран.
- Патогенетичні та імунологічні особливості правцю, ботулізму та анаеробної ранової інфекції.

- Фактори патогенності збудників правцю, ботулізму та анаеробної ранової інфекції.
- Методи мікробіологічної діагностики анаеробної інфекції.
- Препарати для профілактики та лікування правцю, ботулізму, анаеробної інфекції ран.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Широбоков В.П., Климнюк С.І. Мікробіологія, вірусологія та імунологія в запитаннях і відповідях: навч. посіб. /Широбоков В.П., Климнюк С.І., Корнійчук О.П. та ін.] –Тернопіль: ТДМУ, 2019. – 564 с.
2. Широбоков В.П., Климнюк С.І. Практична мікробіологія: навчальний посібник / [Климнюк С.І., Ситник І.О., Широбоков В.П. та ін.], - Вінниця: Нова книга, 2018. - 576 с.
3. Широбоков В.П. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология:ученик для студ. Высш. Мед. учеб. Заведений: перевод с укр. издания / [Адрианова Т.В., Бобырь В.В., Виноград Н.А. и др..], - Винница. – Новая Книга, 2015. – 856 с.: ил.
4. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. навч. закл. / Видання 2-е. – Вінниця: Нова Книга, 2011, 952 с.: іл.
5. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. (За редакцією В.П.Широбокова). Вінниця: «Нова Книга», 2010. 447 – 451, 912 с.
6. Янковский Д.С., Широбоков В.П., Дымент Г.С. Интегральная роль симбиотической микрофлоры в физиологии человека. К: ТОВ «Червона Рута-Турс», 2011. 169 с.
7. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Широбоков В.П. Медицинская и санитарная микробиология. М., 2006.
8. Поздеев О.А. Медицинская микробиология: учебное пособие / под ред. В.И.Покровского. – 4-е изд. испр. – М: ГЭОТАР – Медиа, 2006.
9. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Под ред. А.А.Воробьева, М., 2004, с. 354-356.
10. Климнюк С. І, Ситник І. О., Творко М. С., Широбоков В. П. – Практична мікробіологія. -Тернопіль, „Укрмедкнига”, 2004, с. 190-194.

Додаткова:

1. Medical microbiology / edited by Samuel Baron, MD. – 4th ed. The University of Texas Medical Branch and Galveston, 1996, 1273 p.
2. W.Levinson, E.Jawetz. Medical microbiology and immunology: examination and board review, 6th ed. The McGraw-Hill Companies, 2000, 582 p.