

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

КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІММУНОЛОГІЇ

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
З МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІММУНОЛОГІЇ

Частина V

Київ - 2020 рік

Зміст

Практичне заняття	ТЕМА	Сторінка
№34	Збудники зооантропонозних інфекцій: туляремія, чума. Мікробіологічна діагностика чуми, туляремії	3
№35	Збудники зооантропонозних інфекцій: сибірки, бруцели. Мікробіологічна діагностика сибірки, бруцельозу	10
№36	Рикетсії, хламідії, мікоплазми. Мікробіологічна діагностика рикетсіозів, мікоплазмозів, хламідіозів	17
№37	Спірохети. Мікробіологічна діагностика спірохетозів	27
№38	Патогенні гриби і актиноміцети. Мікробіологічна діагностика мікозів	35
№39	Патогенні найпростіші. Мікробіологічна діагностика протозойних захворювань	44
№40	Клінічна мікробіологія	52
	Рекомендована література	60

Практичне заняття №34

Тема: «Збудники зооантропонозних інфекцій: туляремія, чума. Мікробіологічна діагностика чуми, туляремії»

Актуальність теми

Зооантропонозні інфекції – це захворювання, при яких збудники передаються людині від тварин (хворих або носіїв), характеризуються різноманітністю механізмів, шляхів та факторів передачі.

Збудники зоонозів – це поліпатогенні мікроорганізми, вони здатні вражати велику кількість різних видів тварин. Так, наприклад, збудник чуми – близько 250, туляремії – 50 видів.

Збудники зооантропонозних інфекцій належать до різних родин та родів: збудник чуми - *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis* - збудник туляремії, бруцели (*Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*) – збудник бруцельозу у людей, *Bacillus anthracis* - збудник сибірки та ін. Вказані види бактерій викликають, як правило, інфекційні захворювання, для яких характерними є раптова поява, швидке розповсюдження, масове охоплення населення, важкий перебіг, висока летальність. Інфекційні захворювання з такими характерними ознаками належать до особливо небезпечних інфекцій (ОНІ), чума, крім того, до карантинної інфекції. Враховуючи високу біологічну небезпеку збудників зоонозів, особливо чуми, сибірки, туляремії, вони розглядаються як потенційні агенти для використання в якості бактеріологічної зброї або засобів біотероризму. В зв'язку з цим мікробіологічні дослідження при вказаних інфекціях проводять у спеціальних режимних лабораторіях, з підготовленим персоналом та суворим дотриманням протиепідемічного режиму.

Для діагностики зоонозів широко застосовують методи експрес-діагностики (РІФ, ІФА, ПЛР, фагодіагностику та ін.), шкірно-алергічні проби з відповідними діагностичними алергенами. Специфічна профілактика проводиться по епідемічним показникам за допомогою імунізації вакцинами. Профілактика направлена на санітарну охорону території; недопущення розповсюдження інфекції за межі природних осередків інфекції; проведення санітарно-ветеринарних заходів.

Конкретні цілі:

- Вивчити морфологічні, тинкторіальні і культуральні властивості збудників чуми, туляремії.
- Ознайомитися з диференціальними ознаками роду *Yersinia*
- Розглянути особливості епідеміології збудників чуми та туляремії.
- Проаналізувати схеми мікробіологічної діагностики зооантропонозних інфекцій (чуми, туляремії).
- Вивчити препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і терапії чуми та туляремії.

**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 клітини
Медична і біологічна фізика	Трактувати 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	Трактувати загальні фізико-хімічні закономірності, що лежать в основі процесів розвитку клітин

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент на занятті:

Термін	Визначення
Особливо небезпечна інфекція (ОІІ, карантинна інфекція)	Група інфекційних хвороб (у тому числі карантинні: сибірка, туляремія, чума, холера, жовта гарячка), що характеризуються важкими та (або) стійкими розладами здоров'я у значної кількості хворих, високим рівнем смертності, швидким поширенням цих хвороб серед населення. При реєструванні небезпечного захворювання, відразу подається інформація у Центр контролю та профілактики за захворюваннями (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), тижневий епідеміологічний бюлетень «Weekly epidemiological Record» (WER).
Зоонозні інфекції	Інфекційні хвороби, що циркулюють серед тварин, від яких можливе зараження людини (бруцельоз, туляремія). Для зоонозних інфекцій характерна природна вогнищевість (осередок інфекції), тобто територія, на якій вони циркулюють серед окремих видів тварин.
Чума	Особливо небезпечне зооантропонозне захворювання, що належить до карантинних інфекцій. Механізм зараження: трансмісивний – через блох, можливо через інфіковані продукти, при контакті з тваринами на промисловості. Клінічні форми чуми: шкірна, бубонна (уражає регіональні лімфатичні вузли), первинно- і вторинносептична, первинно- і вториннолегенева. Збудник- <i>Yersinia pestis</i> - Гр (-) паличка овоїдної форми, нерухомі, спора (-), капсула (+).

«Мишиний токсин»	Термолабільний екзотоксин збудника чуми, механізм дії якого пов'язаний з блокуванням адренергічних рецепторів та інгібуванням дихальної активності мітохондрій.
Туляремія	Зооантропонозне природновогнищеве захворювання з множинними механізмами і факторами передачі. Залежно від шляху зараження і локалізації вхідних воріт можуть розвинути бубонна, виразково-бубонна, абдомінальна, легенева клінічні форми хвороби. Шлях зараження: прямий контакт з тушками загиблих тварин, непрямий контакт через предмети, аліментарний, повітряно-пиловий, трансмісивний шлях. Збудник – <i>Francisella tularensis</i> - Гр (-) паличка, спора (-), капсула (+), схильні до поліморфізму.

Теоретичні питання до заняття:

- Поняття про зооантропонозні інфекції.
- Морфологічні, тинкторіальні та культуральні особливості збудників чуми, туляремії.
- Епідеміологія і патогенез чуми та туляремійної інфекції.
- Фактори вірулентності збудників чуми та туляремії.
- Особливості лабораторної діагностики чуми, туляремії.
- Препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування чуми та туляремії.
- Профілактичні заходи запобігання виникнення та поширення чуми та туляремії.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

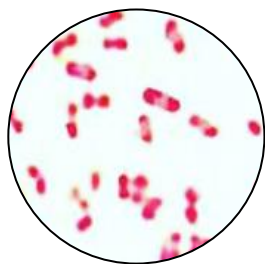
- Дати визначення термінам особливо небезпечна інфекція, зоонозна інфекція,
- Вивчити мікробіологічні методи діагностики чуми, туляремії, та ознайомитись з морфологічними, тинкторіальними та культуральними особливостями цих збудників.
- Ознайомитись з препаратами, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування чуми та туляремії.

Зміст теми.

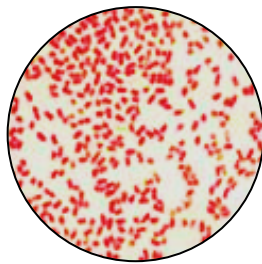
На практичному занятті студенти вивчають демонстраційні препарати чистих культур збудників чуми, туляремії, а також препарат пунктату з бубону від хворого на чуму; вивчають поживні середовища, які використовують для культивування цих збудників і аналізують особливості характеру росту мікроорганізмів на твердих і в рідких поживних середовищах, що враховують при бактеріологічних методах діагностики. Вивчають препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування зооантропонозних інфекцій.

Рекомендації для оформлення протоколу.

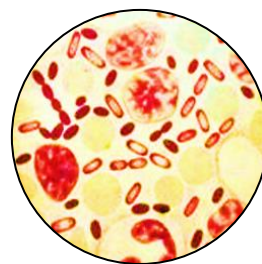
Завдання №1. Розглянути морфологічні та тинкторіальні властивості збудників чуми та туляремії.



Yersinia pestis
(фарбування за Грамом)



Francisella tularensis
(фарбування за Грамом)



Фарбування за Грамом
пунктату бубону
хворого на чуму

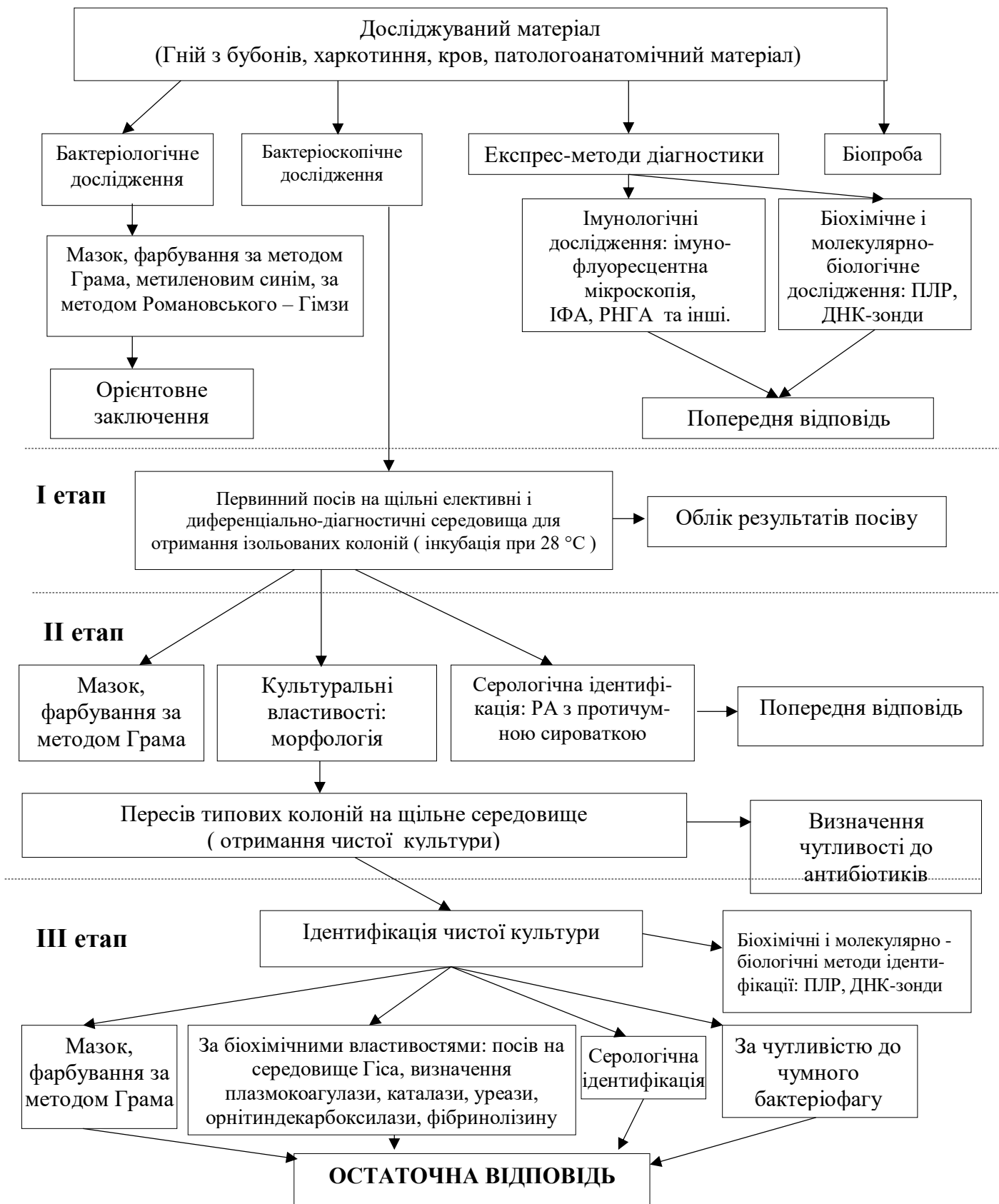
Завдання №2. Ознайомитися з диференціальними ознаками роду *Yersinia*

Диференціація збудників чуми, псевдотуберкульозу і кишкового ієрсиніозу

Ознака		<i>Yersinia pestis</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Рухливість	25 С	–	+	+
	28–37 С	–	–	–
Ферментація	адоніту	–	+	–
	рамнози	–	+	–
	сахарози	–	–	+
	рафінози	–	+	+
	інозиту	–	–	+
Лізис чумним фагом		+	–	–
Утворення H ₂ S		+	+	+
Плазмокоагулаза		+	–	–
Каталаза		+	+	+
Уреаза		–	+	+
Фібринолізин		+	–	–
Колонії на цитратному дезоксицхолевому агарі		червоні колонії	жовті колонії	жовті колонії
Реакція Фогеса-Проскауера	22–24 С	–	–	+
	37 С	–	–	–
Орнітиндекарбоксилаза		–	–	+
Наявність пестицину 1		+	–	–
Наявність мишачого токсину		+	–	–
Вірулентність		в R-формі	в S-формі	в S-формі

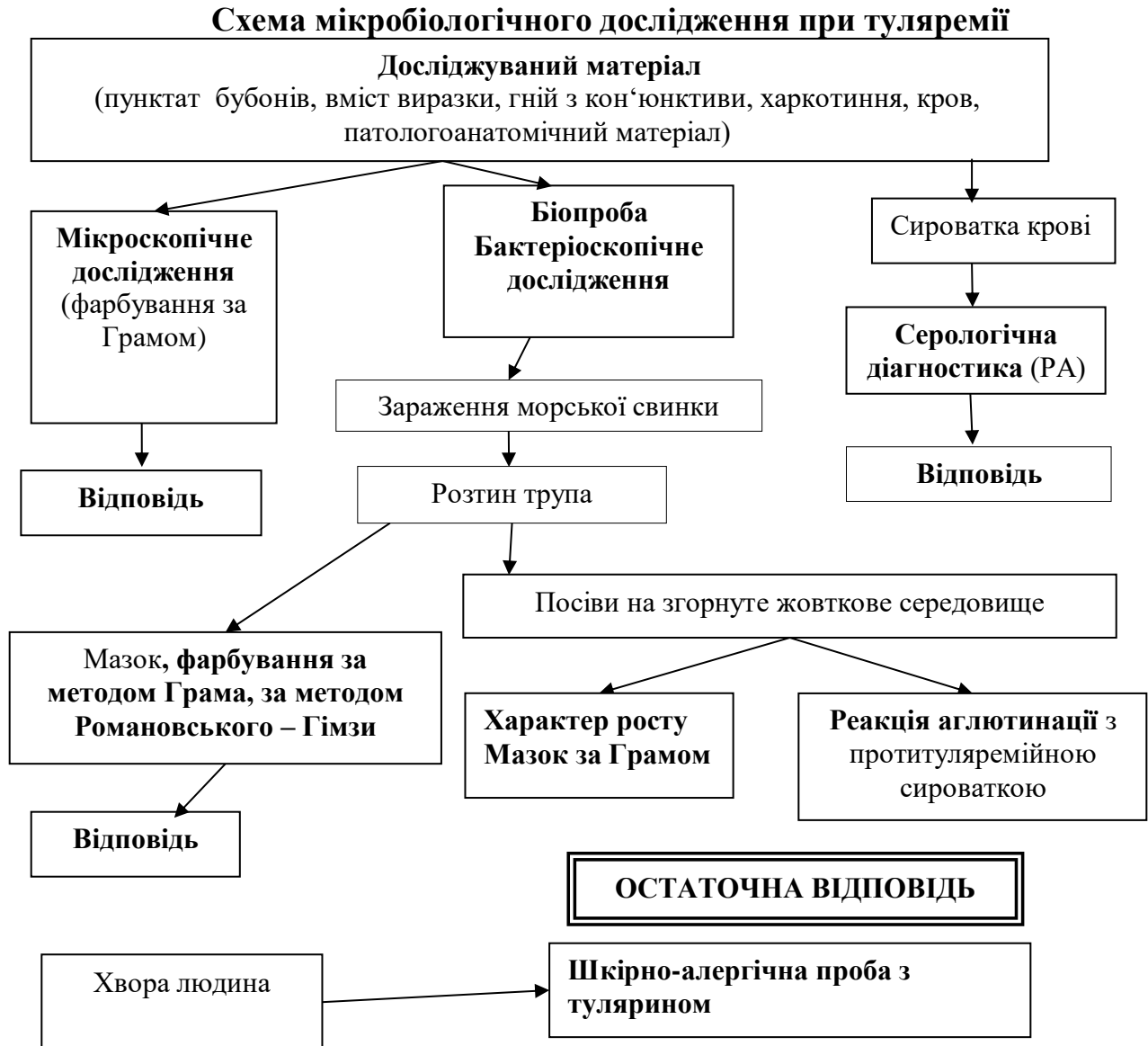
Завдання №3. Розглянути та проаналізувати схему лабораторної діагностики чуми.

Схема мікробіологічного дослідження при чумі



Завдання №4. Ознайомитися з прискореними методами діагностики: визначення флюоресціюючих антитіл в РНГА, реакція преципітації в стандартних агарових пластинках, ПЛР та біочіпи.

Завдання №5. Розглянути та проаналізувати схему лабораторної діагностики туляремії.



Завдання №6. Вивчити препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики, терапії чуми та туляремії.

Специфічна профілактика: жива протичумна вакцина EV, жива авірулентна туляремійна вакцина.

Питання для самоконтролю:

- Що таке особливо небезпечна інфекція?
- Дайте характеристику морфологічних, тинкторіальних та культуральних властивостей збудників чуми, туляремії.
- Які особливості патогенезу, клінічних проявів чуми, туляремії?

- Охарактеризуйте особливості росту збудників чуми, туляремії на твердих і в рідких поживних середовищах, що враховуються при бактеріологічних методах діагностик.
- Які мікробіологічні методи використовують для ретроспективної діагностики чуми, а також для оцінки ефективності проведеної вакцинації?
- Чи можна використати чумний бактеріофаг для профілактики та лікування?
- Які методи є основними для діагностики туляремії?
- Які препарати використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування таких зоонозних інфекцій як чума, туляремія?

Практичне заняття №35

Тема: «Збудники зооантропонозних інфекцій: сибірки, бруцели. Мікробіологічна діагностика сибірки, бруцельозу»

Актуальність теми.

Зооантропонозні інфекції – це захворювання, при яких збудники передаються людині від тварин (хворих або носіїв). У збудників зооантропонозів відсутній органний тропізм. Епідеміологія зоонозів характеризується різноманітністю механізмів, шляхів та факторів передачі. Збудники зооантропонозів – це поліпатогенні мікроорганізми, вони здатні вражати велику кількість різних видів тварин. Більшість зоонозів є природновогнищевими захворюваннями.

Збудники зоонозних інфекцій належать до різних родин та родів: збудник чуми - *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis* - збудник туляремії, бруцели (*Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*) – збудник бруцельозу у людей, *Bacillus anthracis* - збудник сибірки та ін. Вказані види бактерій викликають, як правило, інфекційні захворювання, для яких характерними є раптова поява, швидке розповсюдження, масове охоплення населення, важкий перебіг, висока летальність. Інфекційні захворювання з такими характерними ознаками належать до особливо небезпечних інфекцій (ОНІ). Враховуючи високу біологічну небезпеку збудників зоонозів, особливо чуми, сибірки, туляремії, вони розглядаються як потенційні агенти для використання в якості бактеріологічної зброї або засобів біотероризму. В зв'язку з цим мікробіологічні дослідження при вказаних інфекціях проводять у спеціальних режимних лабораторіях, відповідно підготовленим персоналом із суворим дотриманням протиепідемічного режиму.

Конкретні цілі:

- Вивчити морфологічні, тинкторіальні і культуральні властивості збудників бруцельозу, сибірки.
- Проаналізувати схеми мікробіологічної діагностики бруцельозу, сибірки.
- Провести облік реакції Райта та здійснити постановку реакції Хаддлсона з метою серологічної діагностики бруцельозу.
- Вивчити препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і терапії бруцельозу, сибірки.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №34.

Перелік основних термінів, параметрів, характеристик, які повинен засвоїти студент на занятті:

Термін	Визначення
Антропонозні інфекції	Група інфекційних паразитарних хвороб людини, при яких джерелом та резервуаром інфекції є тільки людина.

Антропозоонозні інфекції	Група інфекційних паразитарних хвороб людини, при яких джерелом та резервуаром інфекції є інфіковані тварини (хворі або носії).
Сапронозні інфекції	Група інфекційних паразитарних хвороб людини, при яких джерелом інфекції є об'єкти навколишнього середовища. Прикладом сапронозної інфекції може бути легіонельоз, збудник якого розмножується у вентиляційних системах та кондиціонерах.
Особливо небезпечна інфекція (ОНІ, карантинна інфекція)	Група інфекційних хвороб (у тому числі карантинні: сибірка, туляремія, чума, холера, жовта гарячка), що характеризуються важкими та (або) стійкими розладами здоров'я у значної кількості хворих, високим рівнем смертності, швидким поширенням цих хвороб серед населення. При реєструванні небезпечного захворювання, відразу подається інформація у Центр контролю та профілактики за захворюваннями (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), тижневий епідеміологічний бюлетень «Weekly epidemiological Record» (WER).
Спорадична захворюваність	Це звичайний рівень захворюваності певною нозологічною формою на певній території в певний історичний проміжок часу.
Епідемія	Це рівень захворюваності певною нозологічною формою на певній території в конкретний проміжок часу, який різко перевищує рівень спорадичної захворюваності.
Пандемія	Це рівень захворюваності певною нозологічною формою на певній території в конкретний проміжок часу, який різко перевищує рівень звичайних епідемій.

Теоретичні питання до заняття:

- Поняття про зоонозні інфекції.
- Епідеміологія і патогенез бруцельозу, сибірки.
- Морфологічні, тинкторіальні та культуральні особливості збудників бруцельозу, сибірки.
- Фактори вірулентності збудників бруцельозу, сибірки.
- Особливості лабораторної діагностики бруцельозу, сибірки.
- Препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування бруцельозу, сибірки.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Дати визначення термінам антропонозні інфекції, зоонозні інфекції, сапронозні інфекції, особливо небезпечна інфекція (ОНІ, карантинна), спорадична захворюваність, епідемія, пандемія.

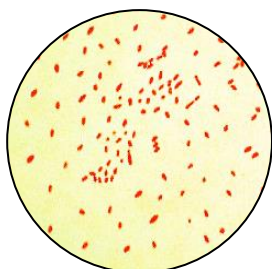
- Вивчити мікробіологічні методи діагностики бруцельозу, сибірки та ознайомитись з морфологічними, тинкторіальними та культуральними особливостями цих збудників.
- Здійснити облік реакції Райта, та здійснити постановку РА Хаддлсона на склі.
- Ознайомитись з препаратами, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування бруцельозу, сибірки.

Зміст теми:

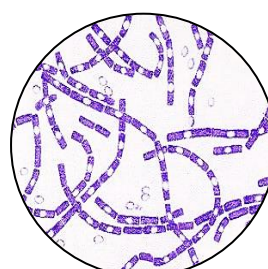
На практичному занятті студенти вивчають демонстраційні препарати чистих культур збудників бруцельозу, сибірки; вивчають поживні середовища, які використовують для культивування цих збудників і аналізують особливості характеру росту мікроорганізмів на твердих і в рідких поживних середовищах, що враховують при бактеріологічних методах діагностики. Студенти аналізують методи мікробіологічної діагностики бруцельозу і сибірки, проводять облік реакції Райта, та здійснюють постановку РА Хаддлсона на склі. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації щодо оформлення протоколу.

Завдання №1. Розглянути морфологічні та тинкторіальні властивості збудників бруцельозу, сибірки.



Brucella melitensis



Bacillus anthracis

Диференційні ознаки видів бруцел

Вид	Потреба в CO ₂	Утворення H ₂ S	Ріст на середовищі, яке містить		Чутливість до фагу Т6
			Основний фуксин (1:25000)	Тіонін (1:50000)	
<i>B.melitensis</i>	-	-	+	+	-
<i>B.abartus</i>	+	+	+	-	+
<i>B.suis</i>	-	+	-	+	-

Завдання №2. Здійснити облік реакції Райта та постановку РА Хаддлсона на склі з метою серологічної діагностики бруцельозу та зробити відповідні висновки.

Схема постановки реакції Райта

Інгредієнти, мл	Пробірки						
	Дослід					КС	КД
	1	2	3	4	5	6	7
Ізотонічний розчин хлориду натрію	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Сироватка в розведенні 1:25	0,5	0,5→	0,5→	0,5→	0,5↑	0,5	-
Діагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Розведення сироватки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800		

Термостат 37°C 18-24 години

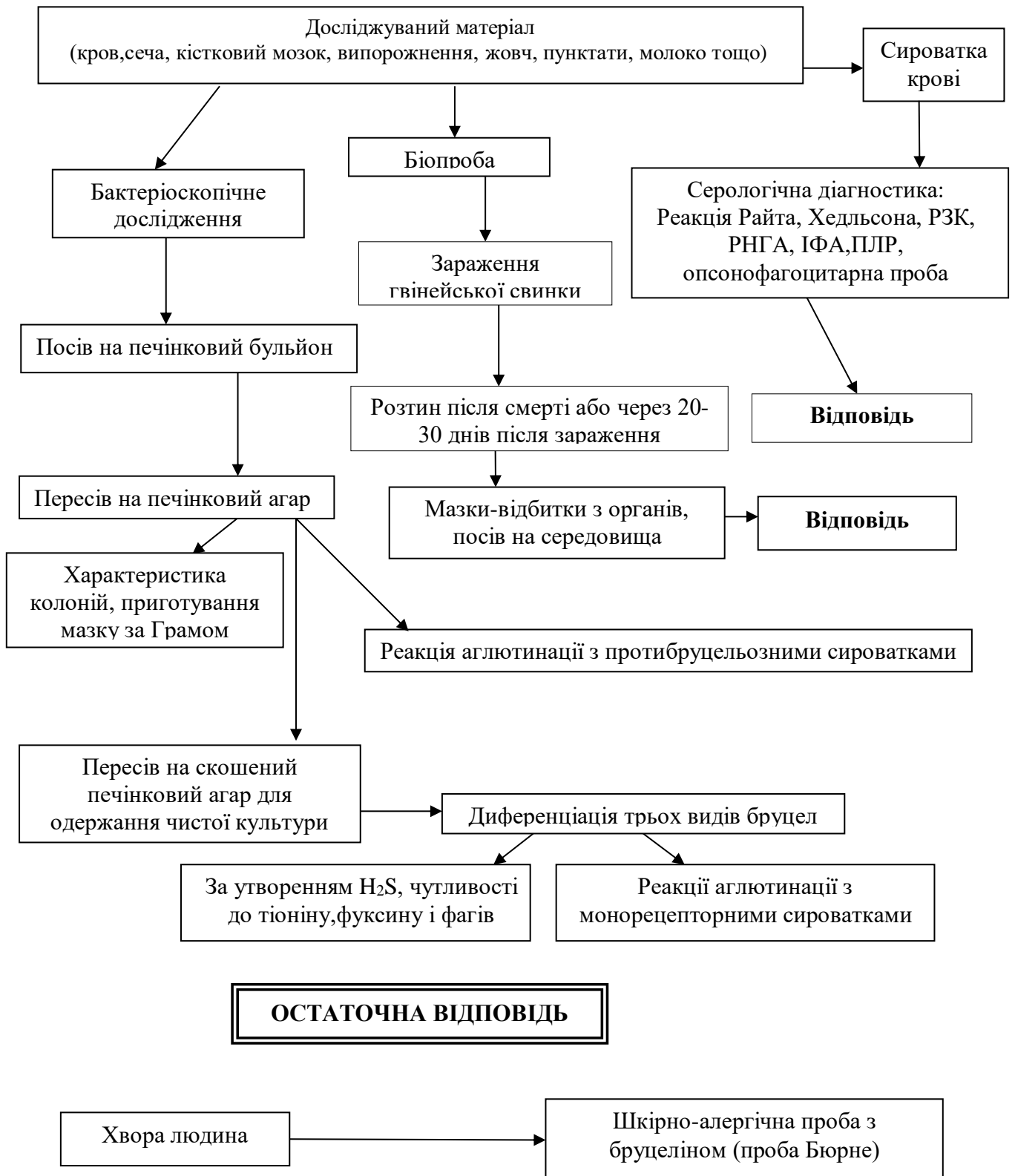
Примітка: у першу і другу пробірки додають 0,5 мл сироватки, перемішують. З другої пробірки 0,5 мл суміші переносять до наступної (третьої) пробірки, продовжуючи розведення до п'ятої пробірки, з якої 0,5 мл суміші видаляють.

Схема постановки пластинчастої реакції аглютинації Хаддлсона

Інгредієнти, мл	Квадрат					
	Дослід				КС	КД
	1	2	3	4	5	6
Сироватка (нерозбавлена)	0,08	0,04	0,02	0,01	0,02	-
Діагностикум	0,03	0,03	0,03	0,03	-	0,03
Ізотонічний розчин хлориду натрію	-	-	-	-	0,03	0,03
Відповідні розведення сироватки в реакції Райта	1:50	1:100	1:200	1:400		
	1	2	3			
	4	5 (К)	6(К)			

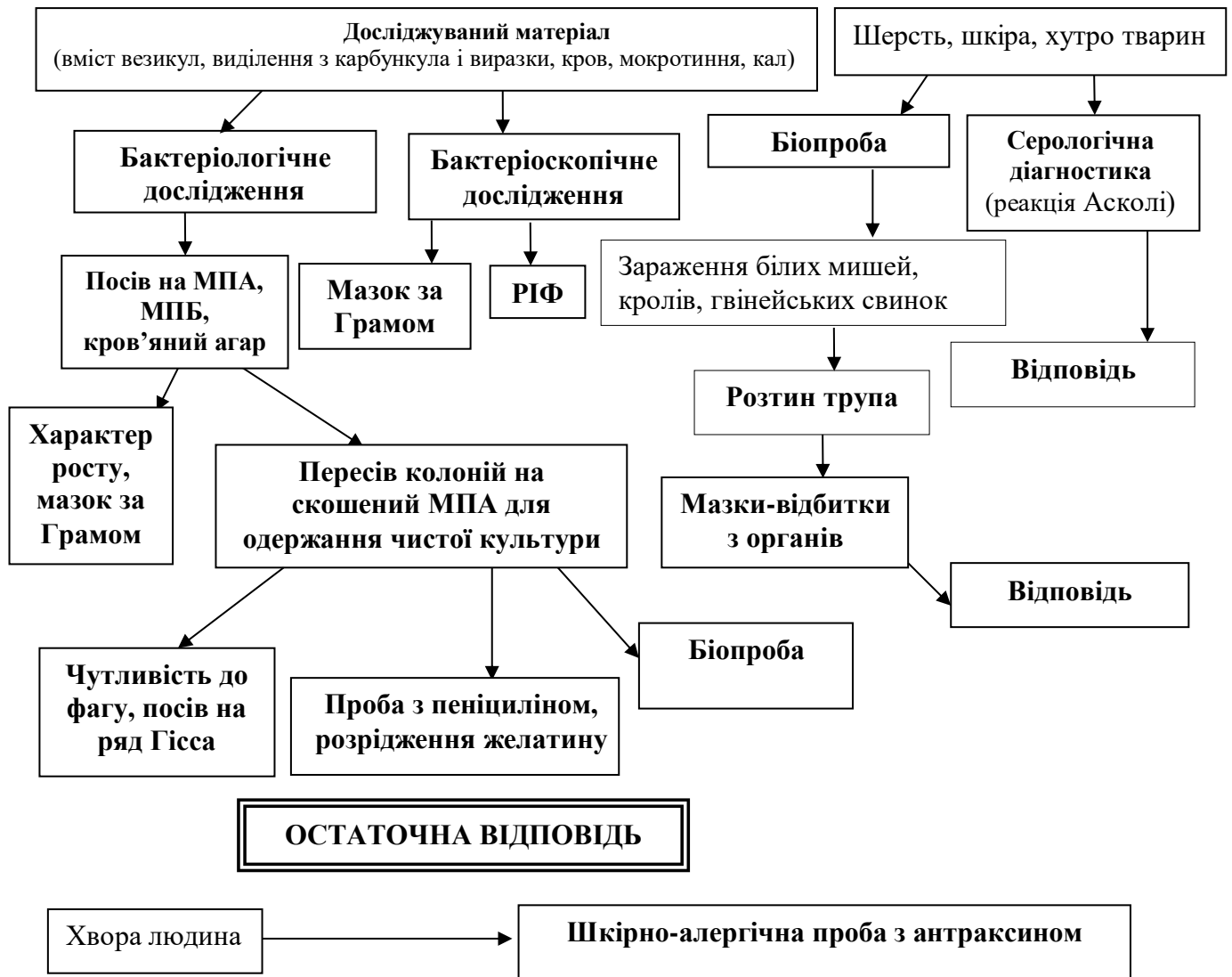
Завдання №3. Розглянути та проаналізувати схему лабораторної діагностики бруцельозу.

Схема мікробіологічного дослідження при бруцельозі



Завдання №4. Розглянути та проаналізувати схему лабораторної діагностики сибірки.

Схема мікробіологічного дослідження при сибірці



Завдання №5. Ознайомитися з сучасними методами діагностики зоонозних захворювань: ПЛР, реакція імунофлюоресценції, модифікаційним тестом «перлинного намиста».

Завдання №6. Вивчити препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і терапії бруцельозу, сибірки.

Питання для самоконтролю студентів.

- Що таке особливо небезпечна інфекція?
- Які особливості патогенезу, клінічних проявів бруцельозу, сибірки?
- Дайте характеристику морфологічних, тинкторіальних та культуральних властивостей збудників бруцельозу, сибірки.

- Охарактеризуйте особливості росту збудників бруцельозу, сибірки на твердих і в рідких поживних середовищах, що враховуються при бактеріологічних методах діагностик.
- Для діагностики якого захворювання використовують РА Райта в пробірках та РА Хаддлсона на склі, в чому суть цих методів?
- Для діагностики якого захворювання використовують алергічну пробу з антраксином?
- Які методи фарбування препаратів можна застосувати при бактеріоскопічній діагностиці сибірки?
- Які препарати використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування бруцельозу, сибірки?

Практичне заняття №36

Тема: «Рикетсії, хламідії, мікоплазми. Мікробіологічна діагностика рикетсіозів, мікоплазмозів, хламідіозів»

Актуальність теми:

Рикетсії – це мікроорганізми, які здатні викликати різні інфекційні захворювання. Вони відносяться до прокаріотів, але мають певні особливості, які їх відрізняють від звичайних бактерій. Так, рикетсії в еволюційно-біологічному аспекті займають проміжне положення між бактеріями та вірусами. Рикетсіози – це група гострих трансмісивних інфекційних захворювань, збудником яких є представники трьох родів родини *Rickettsiaceae*: *Rickettsia*, *Coxiella*, *Rochalima*. Всі рикетсії адаптовані до існування в організмі вошей, блох. За клінічною картиною та епідеміологічними особливостями виділяють 5 груп рикетсіозів: група висипного тифу, гарячка цуцугамуші, група кліщових плямистих гарячок, пневморикетсіоз (Ку-гарячка) і пароксизмальний рикетсіоз. Рикетсіози належать до особливо небезпечних інфекцій, характеризуються раптовим початком, високою температурою, сильною інтоксикацією, висипами на шкірі, ураженням центральної нервової системи, важким перебігом, при деяких рикетсіозах – високою смертністю. Хламідії в еволюційно-біологічному аспекті займають проміжне положення між бактеріями та вірусами. Як і віруси вони є облігатними внутрішньоклітинними паразитами і не здатні розмножуватись в безклітинних середовищах. Мікоплазми не мають клітинної стінки. Більшість цих мікроорганізмів важко виділяються в лабораторних умовах. Маючи певні біологічні особливості, в першу чергу, внутрішньоклітинний паразитизм, ці мікроорганізми можуть довго персистувати в організмі людини, викликати гострі і хронічні, клінічно виявлені і безсимптомні інфекції, рецидиви. Все це ускладнює лабораторну діагностику, профілактику і лікування хвороб, які вони викликають. Все це зумовлює актуальність теми заняття та спрямоване на формування позитивної мотивації її вивчення.

Конкретні цілі:

- Вивчити класифікацію і основні біологічні властивості рикетсій, хламідій і мікоплазм.
- Проаналізувати схеми мікробіологічної діагностики рикетсіозів хламідіозів і мікоплазмозів.
- Вивчити морфологічні і тинкторіальні властивості рикетсій в демонстраційних препаратах.
- Засвоїти методи серологічної діагностики висипного тифу і Ку-гарячки хламідіозів і мікоплазмозів.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивитись тему №34.

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

Термін	Визначення
Рикетсії	Рід паразитичних бактерій з родини <i>Rickettsiaceae</i> , зазвичай мають коковидну форму розміром 0,3-0,6 x 0,8-2 мкм, але зустрічаються паличкоподібні і ниткоподібні клітини. Клітинна стінка побудована за типом грамнегативних бактерій. Здатні розмножуватись тільки в цитоплазмі чутливих клітин. Паразитують на кровоносних комах (вошах, блохах, кліщах). Деякі види, патогенні для ссавців, викликають у них гострі інфекційні захворювання – риккетсіози.
Риккетсіози	Група гострих інфекційних трансмісивних захворювань, збудниками яких є представники родини <i>Rickettsiaceae</i> . В залежності від біологічних властивостей збудника, клінічної картини і епідеміології виділяють такі групи захворювань: 1. <u>Епідемічний висипний тиф</u> (вошивий; збудник <i>R.prowazekii</i>), ендемічний висипний тиф (блошиний, збудник – <i>R.typhi</i>). 2. <u>Гарячка цуцу-гамуши</u> (збудник <i>R.tsutsugamuchi</i>). 3. <u>Група плямистих гарячок</u> : Скалистіх гір (збудник <i>R.rickettsii</i>), Марсельської гарячки (збудник <i>R.conorii</i>), Кліщовий риккетсіоз Північної Азії (збудник <i>R.sibirica</i>), Квінслендський кліщовий тиф (збудник <i>R.australis</i>), Оспоподібний риккетсіоз (збудник <i>R.akari</i>). 4. <u>Гарячка Ку</u> (збудник <i>Coxiella burnetti</i>). 5. <u>Окопна гарячка</u> (збудник <i>R.guintana</i>).
Висипний тиф	Гостра особливо небезпечна інфекція, збудником якої є <i>R.prowazekii</i> . У пацієнтів, які хворіли на висипний тиф, бувають рецидиви, які називаються хворобою Брілля. Рецидиви можуть виникати через десятки років після основного захворювання.
Ку-гарячка	Гостре інфекційне захворювання людини і тварин, що викликається <i>Coxiella burnetti</i> . Людина заражається від великої і дрібної рогатої худоби, сумчастих крис та інших тварин повітряно-крапельним і аліментарним (частіше через молоко) шляхами. Серед тварин інфекція передається іксодовими кліщами. Для зараження людини цей шлях не характерний.
Вейля-Фелікса реакція	РА з сироватками хворих на висипний тиф. Діагностикумом в цій реакції є ОХ-19 <i>Proteus vulgaris</i> , який має загальні зі збудниками висипного тифу антигени. Діагностичний титр 1:200 і вище. Застосовують для серодіагностики висипного тифу, але чутливість і специфічність Вейля-Фелікса реакції нижча РА з рикетсіями.

<i>Mycoplasma</i>	Рід дрібних аспорогенних грамнегативних аеробних або анаеробних мікроорганізмів з родини <i>Mycoplasmataceae</i> , які не мають ригідної клітинної стінки. Поліморфні: зустрічаються сферичні, еліпсоїдної форми, розмірами 150-350 нм, а також ниткоподібні форми, довжиною в декілька мкм. Розмножуються на складних середовищах, мають потребу в стеролах, а також в інших ростових факторах. Паразитують на слизових оболонках сечостатевого і респіраторного шляхів.
Мікоплазмові інфекції	Захворювання людини, які викликають <i>M.pneumoniae</i> , <i>M.hominis</i> та інші. <i>M.pneumoniae</i> обумовлює гостру небактеріальну інтерстиціальну і перибронхіальну пневмонію і бронхіоліт. <i>M.hominis</i> – викликає гострі ангіни і респіраторні захворювання, зазвичай без підвищення температури; простатити, уретрити. <i>M.(Ureaplasma) urealyticum</i> (колишня назва – Т-штами) виділяється при простатитах і негонорейних уретритах.
Хламідії	Порядок дрібних бактеріоподібних нерухомих аспорогенних безкапсульних грамнегативних облігатно-внутрішньоклітинних паразитів ссавців і птахів з класу рикетсій. Описані одна родина і один рід, який включає 2 види: <i>Ch.trachomatis</i> – збудник трахоми, кон'юнктивіту з включеннями і венеричної гранульоми і <i>Ch.psittaci</i> – збудник пситакозу і орнітозу. У циклі розвитку можна виділити не менше як 2 стадії існування хламідій, які відрізняються одна від іншої морфологією, властивостями, функціями: елементарні (позаклітинні) та ретикулярні (ініціальні) тільця. За Романовським-Гімзою елементарні тільця фарбуються в червоний колір, ініціальні – в голубий.
Трахома	Гострий або хронічний кератокон'юнктивіт людини, викликаний хламідіями, який закінчується утворенням рубців і нерідко сліпотою. Збудник – <i>Ch.trachomatis</i> .

Теоретичні питання до заняття:

- Таксономічне положення і основні біологічні властивості рикетсій, хламідій та мікоплазм, що зближує їх з бактеріями і вірусами.
- Методи культивування рикетсій, хламідій та мікоплазм.
- Роль рикетсій в патології людини. Патогенез і імуногенез при висипному тифі. Хвороба Брілля. Особливості патогенезу Ку-гарячки. Профілактика і лікування
- Класифікація хламідій, хвороби, які вони викликають. Патогенез, імунітет і особливості лабораторної діагностики хламідіозів.
- Методи лабораторної діагностики висипного тифу та Ку-гарячки. Їх оцінка. Серологічна діагностика рикетсіозів.
- Мікоплазма- і уреаплазма-інфекції. Характеристика збудників. Патогенез, діагностика і лікування цих інфекцій.

Практичні роботи (завдання), які виконуються на занятті:

- Визначити таксономічне положення і основні біологічні властивості рикетсій, хламідій і мікоплазм. Ознайомитись з епідеміологією і патогенезом захворювань, які вони викликають.
- Засвоїти методи лабораторної діагностики рикетсіозів, хламідіозів і мікоплазмозів.
- Вивчити морфологічні і тинкторіальні властивості рикетсій в демонстраційних препаратах, забарвлених за методом Здродовського та Романовського-Гімзи.
- Вивчити морфологічні і тинкторіальні властивості хламідій в демонстраційних препаратах.
- Засвоїти методи серологічної діагностики висипного тифу та Ку-гарячки. Здійснити облік РЗК, РАР та РНГА, поставлених з метою серологічної діагностики рикетсіозів.
- Ознайомитись з препаратами для діагностики, специфічної профілактики та лікування рикетсіозів, хламідій і мікоплазм.

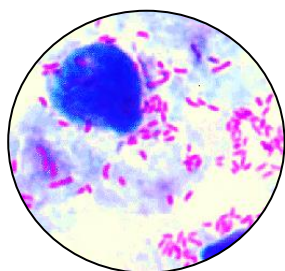
Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають класифікацію і біологічні властивості рикетсій, хламідій і мікоплазм, знайомляться з патогенезом і імуногенезом захворювань, які ці мікроорганізми викликають; вивчають під мікроскопом препарати рикетсій, зафарбовані за методом Здродовського, вчать на препаратах, отриманих від хворого на уrogenітальний хламідіоз, виявляти включення хламідій в клітинах циліндричного епітелію уретри. Студенти аналізують методи лабораторної діагностики рикетсіозів, здійснюють облік реакції аглютинації рикетсій (РАР), непрямой гемаглютинації (РНГА), поставлених з метою серодіагностики рикетсіозів, знайомляться з препаратами, які використовуються для діагностики, специфічної профілактики і лікування рикетсіозів, хламідіозів і мікоплазмозів.

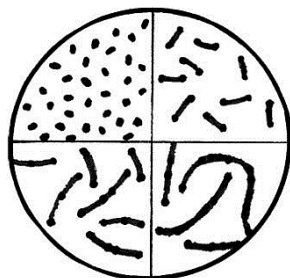
Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача

Рекомендації для оформлення протоколу.

Завдання 1. Визначити морфологічні властивості рикетсій в демонстраційних препаратах.



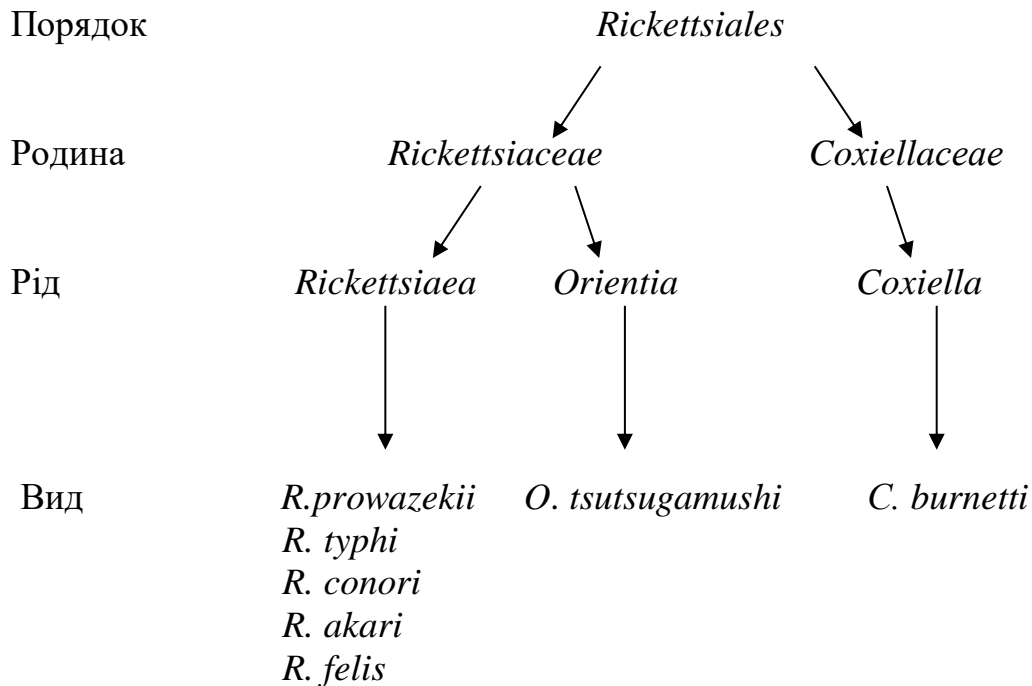
**Препарат рикетсій
(за Здродовським)**



Морфологічні типи рикетсій:

- 1 – кокоподібні;
- 2 – паличкоподібні;
- 3 – бацилярні;
- 4 – ниткоподібні

Класифікація патогенних для людини риккетсій



Лабораторна діагностика рикетсіозів.

Патологічний матеріал: кров (джерело збудників), при Ку-гарячці – харкотиння, сеча, спинно-мозкова рідина, молоко, м'ясо тварин.

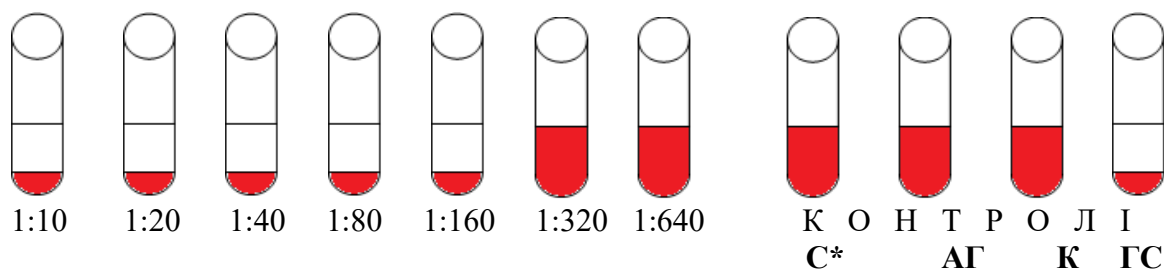
1. **Мікроскопічний метод.** Виявлення рикетсій в досліджуваному матеріалі, в організмі заражених тварин, курячих ембріонах, в тілі вошей, блох, кліщів. Препарати зафарбовуються за Здродовським, Романовським-Гімзою. При фарбуванні за Здродовським рикетсії забарвлюються в рубіново-червоний, цитоплазма клітин – в голубий, а ядра в синій колір.

2. **Біологічна діагностика.** Для діагностики епідемічного висипного тифу (виділення *R. prowazekii*) біопроба малоефективна. Зараження тварин має діагностичне значення при Ку-гарячці, ендемічному висипному тифі (кров'ю хворого інфікують гвінейських свинок), при гарячці цуцугімуші (інфікують білих мишей, рідше хом'яків, бавовняних щурів). Але всілякі маніпуляції з рикетсіями дуже небезпечні (становлять великий ризик), тому виділення збудника проводять лише при наукових дослідженнях в спеціальних режимних лабораторіях.

3. **Серологічна діагностика** – основа сучасної лабораторної діагностики. Застосовують реакцію Вейля-Фелікса, аглютинації з рикетсіями, РНГА, РЗК, непрямую РІФ (дозволяє ідентифікувати IgM і IgG, що дає можливість ранньої діагностики і визначення стадії хвороби). Надійні результати можливі лише в кінці першого тижня захворювання. Крім визначення діагностичних титрів, необхідно також орієнтуватись на наростання титрів антитіл, що має більше епідемічне значення.

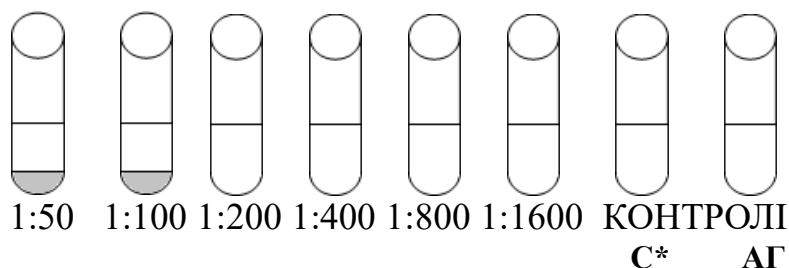
4. **Полімеразна ланцюгова реакція** розроблена для діагностики активних форм рикетсіозів.

Завдання 2. Здійснити облік реакції зв'язування комплементу (РЗК), поставленої з метою серодіагностики висипного тифу.



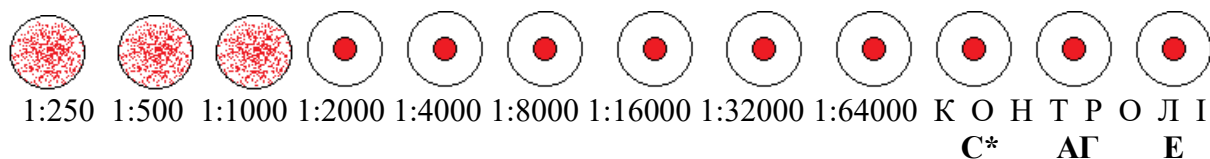
- * С – сироватка
- АГ- антиген
- К – комплемент
- ГС – гемолітична система

Завдання 3. Здійснити облік реакції аглютинації рикетсій (РАР), поставленої з метою серодіагностики рикетсіозів.



- * С – сироватка
- АГ- антиген

Завдання 4. Здійснити облік реакції непрямой гемаглютинації (РНГА), поставленої з метою серодіагностики висипного тифу.



- * С – сироватка
- АГ- антиген
- Е - еритроцитів

Завдання 5. Вивчити зразки препаратів, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування рикетсіозів.

Класифікація хламідій

Порядок *Chlamydiales*



1. *Мікроскопічний метод.* Використовується в практичних лабораторіях при діагностиці трахоми, уrogenітального хламідіозу. Досліджуються мазки-зскребки з уретри, кон'юнктиви тощо, зафарбовані за методом Романовського-Гімзи. Виявлення 5-10 типових включень ретикулярних або елементарних тілець в цитоплазмі уражених клітин має діагностичне значення.

2. *Експрес-метод.* Виявлення морфологічних структур та антигенів у досліджуваному матеріалі за допомогою прямої і непрямой РІФ, ІФА з використанням моноклональних хламідійних антитіл. Чутливість ІФА по виявленню хламідій коливається в межах 50-70% у чоловіків і 88-100% у жінок.

3. *Методи виділення і ідентифікації хламідій.* Виділяють хламідії шляхом зараження курячих ембріонів або культури клітин (L-929, McCoу, HeLa). Це найбільш точний і доказовий метод діагностики хламідіозу (золотий стандарт). Через 48-96 годин інфіковані клітини забарвлюють за методом Романовського-Гімзи, або обробляють флуоресцентними антитілами і виявляють наявність цитоплазматичних включень. Метод високо специфічний (100%), чутливий (75%), результат відомий через 42-96 годин, але малодоступний для практичних лабораторій і є великий ризик зараження персоналу.

4. *Серологічна діагностика.* Використовують РНГА, непрямую РІФ (в основному для діагностики зоонозних хламідіозів), РЗК (не використовується для діагностики уrogenітального хламідіозу), ІФА (високоспецифічний і доступний, використовують діагностичні тест-системи). Досліджують парні сироватки, визначають наростання титрів антитіл в 4 і більше разів.

5. *Алергічна проба з орнітином* (інактивована алантоїсна культура *C.psittaci*) ставиться як для ранньої (2-9 день захворювання), так і ретроспективної діагностики хламідійного орнітозу.

6. *Біологічна діагностика.* Тільки при хламідійному орнітозі, заражають інтрацеребрально, інтраназально або в черевну порожнину білих мишей-сосунків. В мазках-відбитках виявляють включення хламідій в цитоплазмі мононуклеарних клітин.

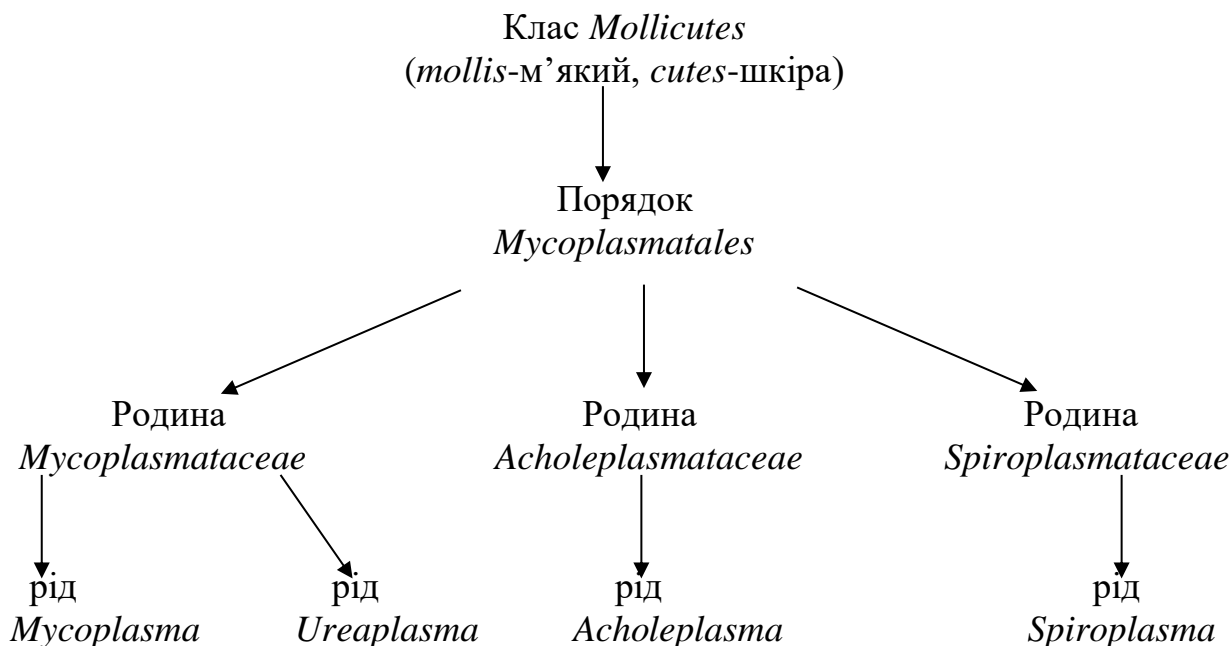
Завдання 6. Визначити морфологічні властивості хламідій в демонстраційних препаратах.



Включення хламідій в клітинах циліндричного епітелію уретри хворого на хламідіоз

(заб. за Романовським-Гімзи)

Класифікація мікоплазм



Збудники основних мікоплазмозів у людини

Вид мікоплазм	Захворювання
<i>M.pneumoniae</i> (агент Ітона)	Атипові пневмонії, фарингіти, ГРЗ
<i>M.hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Уретрити, цервіцити, простатити, вульвовагініти, пієлонефрити, патологія вагітності і плода, ін фертильність чоловіків.
<i>M.hominis</i> , <i>M.fermentans</i> , <i>M.arthritis</i>	Артрита за типом ревматоїдного

Основні біохімічні властивості мікоплазм, патогенних для людини

Вид	Гідроліз аргініну	Утворення кислоти при ферментації глюкози	Утворення кислоти при ферментації манози	Відновлення солей тетразолію (а.у.*/ан.у.*)
<i>M.pneumoniae</i>	-	+	+	+/+
<i>M.hominis</i>	+	-	-	-/-
<i>M.fermentans</i>	+	+	-	-/+
<i>M.genitalium</i>	-	+	±	+/-

* а.у. – аеробні умови; ан.у. – анаеробні умови.

Мікробіологічна діагностика мікоплазмозів і уреаплазмозів

Патологічний матеріал:

кров, харкотиння, слиз носоглотки, виділення і зскрібки з уретри, вагіни, шийки матки, осад сечі, сперма та інші.

Мікоплазми

1. *Бактеріологічний метод*. Найбільш доказовий. Проводять посів на щільні і двофазові середовища, виділення та ідентифікацію чистих культур. Для посіву використовують серцево-мозковий агар, двофазове середовище (селективний агар з налитим поверх нього сироватково-глюкозним бульйоном з додаванням пеніциліну і ацетату талія). Ознаки росту з'являються від одного до 7 тижнів. Прискорює цей метод ідентифікація колоній за допомогою епіфлуоресценції. Культури ідентифікуються на основі морфологічних, культуральних, ферментативних властивостей.

2. *Експрес-метод*. За допомогою РІФ, РНГА, ІФА, агрегат-аглотинації виявляють мікоплазми або їх антигени в клінічному матеріалі.

3. *Серологічна діагностика*. Застосовуються РЗК, ІФА, агрегат-аглотинація, непряма РІФ для виявлення специфічних антитіл в крові хворого. Респіраторні мікоплазми в практичних лабораторіях найчастіше визначають методами серодіагностики.

4. *Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)* є найчутливішим методом діагностики мікоплазмозів.

Діагностика уреоплазмозів.

1. *Бактеріологічний метод* – найчастіше використовується на практиці. Проводять посів на рідкі і щільні середовища. Облік результатів посіву через 24-48 годин за зміною кольору середовища при відсутності каламуті, що пов'язано зі здатністю *U.urealyticum* розщеплювати сечовину. Метод визначення уреазної активності є основним при діагностиці уреоплазмозів.

2. *Експрес-метод*. Мікроскопічне виявлення уреоплазм в препаратах сперми при забарвленні флуорохромом олівоміцином.

3. *Серологічна діагностика* в РЗК, непрямій РІФ, РНГА, ІФА, агрегат-аглотинації, але реактиви для цих реакцій малодоступні для практичних лабораторій.

Питання для самоконтролю:

1. Таксономічне положення і основні біологічні властивості рикетсій, хламідій та мікоплазм. Чим відрізняються і що зближує ці мікроорганізми з бактеріями і вірусами?
2. Класифікація рикетсій, хламідій та мікоплазм. Історія відкриття. Культивування рикетсій.
3. Роль рикетсій, хламідій та мікоплазм в патології людини. Патогенез і імуногенез висипного тифу, хвороби Брілля. Особливості патогенезу Ку-гарячки, хламідіозів та мікоплазмозів.
4. Методи лабораторної діагностики висипного тифу та Ку-гарячки, їх оцінка. Серологічна діагностика рикетсіозів, хламідіозів та мікоплазмозів.
5. Які препарати використовуються для діагностики, лікування і специфічної профілактики висипного тифу і Ку-гарячки, хламідіозів та мікоплазмозів?

Практичне заняття №37

Тема: «Спірохети. Мікробіологічна діагностика спірохетозів»

Актуальність теми.

Патогенні спірохети належать до родини *Spirochetaceae*, порядку *Spirochaetales*. Родина складається з 5 родів. Збудники людини належать до 3 родів: *Treponema* (збудник сифілісу – *T.pallidum*, збудник фрамбезії – *T.pallidum subsp. tenue*, збудник пінти – *T.carateum*); *Borrelia* (збудник епідемічного поворотного тифу – *B.recurrentis*, збудники кліщового поворотного тифу – *B.persica*, *B.hispanica* та ін.) і роду *Leptospira* родини *Leptospiraceae* (збудник лептоспірозу – *Leptospira interrogans*). Захворювання, які викликають спірохети називаються спірохетозами. Вони мають певні спільні ознаки в патогенезі, клініці та епідеміології захворювань. Так, для спірохетозів характерний циклічний перебіг захворювань, особливо при поворотному тифі з повторними нападами лихоманки. Сифіліс також проходить у вигляді послідовних стадій. Наявність рецидивів спостерігається і при лептоспірозі. При всіх спірохетозах збудник виявляється в крові і тканинах. Поворотний тиф є типовою кров'яною інфекцією, передача якої можлива лише через кровососів (воші, кліщі). При сифілісі спірохети розмножуються в основному в тканинах, а на деяких стадіях перебувають у крові. При лептоспірозі спірохети також виявляють у крові і тканинах. Протягом практичної роботи лікар може зустрітися з різними спірохетозами. За даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я кожного року в світі захворює на сифіліс 50 млн. людей, в Європі – 40 тисяч, а число незареєстрованих випадків значно більше. Сифіліс є маркером СНІДу, який спричиняє вірус імунодефіциту людини. Останнім часом набув поширення бореліоз – хвороба Лайма – збудник *B. burgdorferi*, зареєстровані спорадичні випадки поворотного тифу, широко розповсюджений лептоспіроз в Україні. Тому доцільним і необхідним є проведення практичного заняття, яке присвячене розгляду і засвоєнню студентами патогенезу, принципів лабораторної мікробіологічної діагностики спірохетозів (поворотного тифу, лептоспірозів і сифілісу). Все вище наведене зумовлює актуальність теми заняття та спрямоване на формування позитивної мотивації її вивчення.

Конкретні цілі:

- Засвоїти біологічні властивості кампілобактерів, гелікобактерів, спірохет, закономірності патогенезу, особливості імунітету, методи діагностики кампілобактеріозів, гелікобактеріозів, сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозу.
- Оволодіти методами лабораторної діагностики сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозу.
- Вивчити препарати, що використовуються для діагностики, специфічної профілактики та терапії кампілобактеріозів, гелікобактеріозів, спірохетозів.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №34.

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

Термін	Визначення
Патогенні спірохети	Тонкі, звивисті, рухомі мікроорганізми, які відрізняються один від одного за розмірами, глибиною спіралі, амплітудою і кількістю вигинів. Спірохети розрізняють також за реакцією на зафарбування. За методом Романовського-Гімзе добре зобарвлюються борелії – в синьо-фіолетовий колір – і дуже слабо трепонеми – в блідо-рожевий колір. В живому стані патогенні спірохети можна виявити при мікроскопії досліджуваного матеріалу в темному полі зору. Рухомі мають 4 види руху: поступальний, згинальний, обертовий і маятникоподібний.
Сифіліс	Венеричне інфекційне захворювання, при якому уражається шкіра, слизові оболонки, внутрішні органи і центральна нервова система. Слово “сифіліс” вперше з’явилося в поемі видатного італійського вченого, лікаря, філософа і поета з Верони Джіроламо Фракасторо “Сифіліс”, або “французька хвороба”, яка видана у Венеції в 1530 р. За ім’ям героя поеми пастуха Сіфіла, якого боги покарали хворобою статевих органів (<i>Suis</i> – свиня, <i>philos</i> – люблячий), хворобі присвоєно назву “сифіліс”.
Збудник сифілісу	<i>Treponema pallidum</i> , яка входить до роду <i>Treponema</i> (від лат. <i>trepo</i> - повертати, <i>neto</i> - нитка) відкритий в 1905 р. Ф.Шаудіном і Е.Гофманом. Стара назва збудника – бліда спірохета зумовлена тим, що мікроорганізм погано забарвлюється барвниками внаслідок низького вмісту нуклеопротейдів. <i>Treponema pallidum</i> – тонкі клітини спіралеподібної форми з 12-14 завитками.
Поворотні тифи	Гострі, кров’яні трансмісивні інфекції, які викликають борелії і характеризуються загальною інтоксикацією, повторними нападами лихоманок – гарячок, які чергуються з без температурними періодами (днями) – немовби видужанням, різним ступенем ураження печінки і селезінки, інколи жовтяницею, менінгітом, ураженням інших органів. Заразність крові хворого була доведена в 1874 р. Г.М.Мінхом в Одесі, в дослідках самозараження.
Збудники поворотного тифу	Борелії поворотного тифу – це збудники бореліозів. Епідемічний (вошивий) поворотний тиф викликає <i>Borrelia recurrentis</i> , а ендемічний – <i>B.persica</i> , <i>B.duttoni</i> , <i>B.caucasica</i> . Збудники поворотного тифу відрізняються від трепонем наявністю великих пологих нерівномірних завитків, кількість яких становить від 3 до 10.

Лептоспіроз	Гостре інфекційне зоонозне захворювання, яке характеризується лептоспіремією, лихоманкою, інтоксикацією, ураженням нирок, капілярів печінки, м'язів, серцево-судинної і центральної нервової систем.
Збудники лептоспірозу	Збудники гострих інфекційних захворювань лептоспірозів, які уражають людину, гризунів, велику рогату худобу, овець, свиней, собак та інших тварин. Викликається лептоспіроз збудником <i>Leptospira interrogans</i> (грец. <i>leptos</i> - довгий, тонкий). Збудниками лептоспірозу часто є <i>L.pomona</i> , <i>L.monijakov</i> , <i>L.grippotyphosa</i> , <i>L.tarassovi</i> , <i>L.canicola</i> , <i>L.icterohaemorrhagiae</i> . Лептоспіри – довгі, тонкі спіралеподібні мікроорганізми з 12-18 дрібними завитками. Кінці їх загнуті у вигляді крючків.

Теоретичні питання до заняття.

- Характеристика кампілобактерів: класифікація, морфологія, антигенний склад, біохімічна активність, культуральні властивості, патогенез кампілобактеріозів, мікробіологічна діагностика.
- Характеристика гелікобактерів: класифікація, морфологія, культуральні властивості, патогенез виразкової хвороби шлунку, методи діагностики захворювань гелікобактерної природи, лікування гелікобактеріозів.
- Патогенні спірили. Збудник гарячки від укусу щурів (хвороби Содоку). Мікробіологічна діагностика захворювання.
- Загальна характеристика родини спірохет. Класифікація.
- Історичні дані про збудників поворотного тифу, сифілісу, лептоспірозів
- Збудник сифілісу. Біологічні властивості. Патогенез і імунітет. Мікробіологічна діагностика і специфічна терапія сифілісу.
- Лептоспіри, їх характеристика, класифікація. Патогенез, імунітет і мікробіологічна діагностика лептоспірозів. Специфічна профілактика і терапія.
- Борелії, біологічні властивості. Роль в патології людини. Збудники епідемічного і ендемічного поворотних тифів, хвороби Лайма. Патогенез, імуногенез, мікробіологічна діагностика поворотного тифу, хвороби Лайма. Специфічна профілактика і терапія.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Створити схеми мікробіологічної діагностики сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозів.
- Ознайомитися з методами бактеріоскопічної діагностики сифілісу та поворотного тифу.
- Оволодіти методикою серологічної діагностики сифілісу методом постановки реакції Вассермана.

- Вивчити препарати, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і терапії спірохетозів.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають еволюцію і властивості представників звивистих форм бактерій; історію відкриття та вивчення кампілобактерів, гелікобактерів, спірохет; біологічні властивості кампілобактерів, гелікобактерів, спірохет; закономірності патогенезу, особливості імунітету, методи діагностики кампілобактеріозів, гелікобактеріозів, сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозу; препарати для діагностики, специфічної профілактики та терапії кампілобактеріозів, гелікобактеріозів, спірохетозів. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу

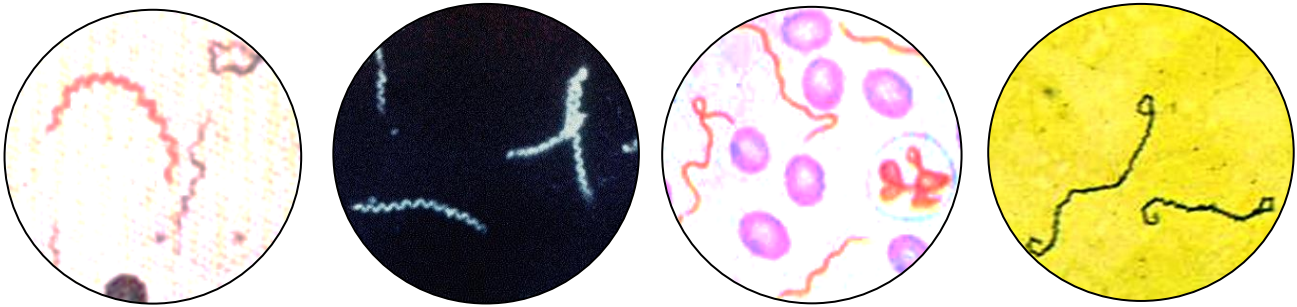
В протокол необхідно внести:

1. Класифікацію патогенних представників родини *Spirochetaceae*.
2. Морфологічні властивості збудників спірохетозів.
3. Схеми мікробіологічної діагностики сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозів.
4. Схему постановки основного дослідження реакції Васермана.
5. Таблицю диференціації епідемічного і ендемічного поворотного тифу.
6. Препарати, які використовуються для діагностики, лікування і специфічної профілактики сифілісу, поворотного тифу та лептоспірозів.

Класифікація патогенних представників родини *Spirochetaceae*

Рід	Вид	Підвид	Захворювання
<i>Treponema</i>	<i>pallidum</i>	<i>pallidum</i>	Сифіліс
	<i>pallidum</i>	<i>pertenue</i>	Фрамбезія
	<i>carateum</i>		Пінта
	<i>vincentii</i>		Ангіна Венсана-Плаута
<i>Borrelia</i>	<i>recurrentis</i>		Епідемічний (вошивий) поворотний тиф
<i>Borrelia</i>	<i>caucasica, duttoni, persica</i> та ін.		Ендемічний (кліщовий) поворотний тиф
<i>Borrelia</i>	<i>burgdorferi</i>		Хвороба Лайма
<i>Leptospira</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>		Лептоспіроз

Завдання 1. Розглянути морфологічні та тинкторіальні властивості збудників спірохетозів



<i>Treponema pallidum</i>		<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira interrogans</i>
Метод Романовського-Гімзи	Темнопольна мікроскопія	Метод Романовського-Гімзи	Метод Морозова

Особливості мікробіологічної діагностики спірохетозів (сифілісу, лептоспірозу, поворотного тифу)

Мікробіологічна діагностика сифілісу

1. Мікроскопія (нативний і фіксований матеріал)
 - фазовий контраст
 - темне поле
 - світлова мікроскопія (метод Романовського-Гімзи, Морозова)
2. Серологічна діагностика
 - Імуноферментний аналіз (ІФА)
 - Реакція непрямой гемаглютинації (РНГА)
 - Реакція Вассермана
 - Осадкові реакції (Кана і Закса-Вітебського)
 - Реакції іммобілізації блідої трепонеми (РІТ)
 - Реакція імунофлюоресценції (РІФ)
3. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)

Мікробіологічна діагностика поворотного тифу:

- бактеріоскопічний метод
- (фарбування методом Романовського-Гімзи, мікроскопія темного поля)
- серологічний метод (РНІФ, ІФА)
- молекулярно-генетичний (ПЛР)

Диференціація епідемічного і ендемічного поворотного тифу

Ознаки	Епідемічний поворотний тиф	Ендемічний(кліщовий) поворотний тиф
Збудник	<i>B.recurrentis</i>	<i>B.persica, B.caucasica</i>
Переносник	<i>Pediculus vestimenti</i> і рідше <i>P.capitis</i>	<i>Alectorobius papillipes</i> <i>Alectorobius verrucosus</i>
Патогенність для морської свинки (біологічний метод)	Не хворіє	Захворювання настає через 5-7 діб (введення 0,5 см ³ крові підшкірно або 1-2 краплини у кон'юнктиву ока).
Наявність збудника в “товстій” краплі крові під час гарячкового періоду	Виявляється велика кількість спірохет	Поодинокі спірохети, але їх виявлення є можливим як під час нападу, так і в період між ними.
При огляді в темному полі зору мікроскопа	Наявність одного контура в спірохеті	Наявність двох контурів в спірохеті
Розповсюдження	Практично відсутній	Центральна, Середня Азія і Середземне море (<i>B.persica</i>); Кавказ, Україна (<i>B.caucasica</i>).

Мікробіологічна діагностика лептоспірозу:

● **бактеріоскопічний метод (слабка чутливість)** (метод Морозова, темнопольна та фазово-контрастна мікроскопія)

- бактеріологічний
- біологічний (культивування в морських свинках)
- серологічний методи
- молекулярно-генетичний (ПЛР)

Завдання 3. Здійснити облік результатів реакції Васермана, з метою серологічної діагностики сифілісу (за схемою).

Для виконання реакції отримують сироватку крові, інактивують на водяному нагрівачі при 56⁰С 30 хв і розливають у 4 пробірки.

Використовується в реакції Васермана: 1) специфічний антиген, який містить антигени збудника – зруйновані ультразвуком трепонеми; 2) неспецифічний антиген – ліпоїдний екстракт з бичачого серця з лецитином і холестерином – кардіоліпідний антиген; 3) неспецифічний антиген – спиртовий екстракт ліпоїдів із м'язів серця бика з холестерином.

Схема виконання основного дослідження реакції Васермана

Інгредієнти	Пробірка №1	Пробірка №2	Пробірка №3	Пробірка №4
Сироватка крові хворого, інактивована і розведена 1:5	0,5см ³	0,5 см ³	0,5 см ³	0,5 см ³
Антиген №1(специфічний)	0,5 см ³	-	-	-
Антиген №2(неспецифічний)	-	0,5 см ³	-	-
Антиген №3(неспецифічний)	-	-	0,5 см ³	-
Комплемент (робоча доза)	0,5 см ³	0,5 см ³	0,5 см ³	0,5 см ³
Ізотонічний розчин NaCl (натрія хлориду)	-	-	-	0,5 см ³

Термостат при температурі 37⁰ С упродовж 45 хв.

Гемолітична система сенсibiliзована	1,0 см ³	1,0 см ³	1,0 см ³	1,0 см ³
-------------------------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------

Термостат при температурі 37⁰ С упродовж 1 год.

Результат:	Пробірка №1	Пробірка №2	Пробірка №3	Пробірка №4
з сироваткою хворого сифілісом	-Г	-Г	-Г	+Г
з нормальною сироваткою	+Г	+Г	+Г	+Г

***Примітка:** -Г гемолізу немає; + Г гемоліз; + додатний результат; - від'ємний результат. Облік результатів проводиться після настання гемолізу у всіх контролях.*

У 50% хворих реакція стає додатною після появи твердого шанкру. В другому і третьому періодах сифілісу 75-90% додатних реакцій. Після лікування реакція Васермана від'ємна.

Питання для самоконтролю:

- Яке положення в системі мікроорганізмів займають патогенні звивисті бактерії?
- На які групи поділяють патогенні для людини спірохети?
- Історичні дані про збудників поворотного тифу, сифілісу та лептоспірозів?
- У чому полягають біологічні особливості збудників спірохетозів та критерії диференціації їх від сапрофітних мікроорганізмів такої ж морфології?

- Які є форми поворотного тифу, переносники та патогенез хвороби?
- Патогенез, клінічні форми сифілісу, імунітет.
- Які біологічні властивості у лептоспір?
- Патогенез, клінічні форми, імунітет, специфічна профілактика лептоспірозу, імунітет, специфічна профілактика.
- Який механізм імунітету при захворюваннях, викликаних трепонемами, бореліями та лептоспірами?
- Як можна обґрунтувати принципи мікробіологічної діагностики спірохетозів, лептоспірозів, які методи діагностики застосовують?

Практичне заняття №38

Тема: «Патогенні гриби і актиноміцети. Мікробіологічна діагностика мікозів»

Актуальність теми:

В наш час відомо біля 500 видів грибів, які є патогенними або умовно-патогенними для людини і тварин. Хвороби, викликані грибами, називаються мікозами. При мікозах можуть уражатись різні тканини і органи. В залежності від локалізації уражень мікози поділяють на: поверхневі, дерматомікози, підшкірні, системні (глибокі) та опортуністичні мікози.

Близькими за морфологічними властивостями до грибів є актиноміцети, патогенні види яких здатні також викликати захворювання у людей і тварин. Актиноміцети можуть уражати різні тканини і органи. Актиноміцети в еволюційно-біологічному аспекті займають проміжне місце між бактеріями і грибами. По зовнішньому вигляду і способу розмноження вони схожі з міцеліальними грибами (мають гіфи, міцелій, деякі мають спори). До бактерій їх наближає те, що вони прокаріоти і чутливі до антибактеріальних препаратів.

В останній час все актуальніше постає питання своєчасної діагностики і лікування системних мікозів і актиномікозів, фактором розвитку для яких є широке застосування кортикостероїдної, імунодепресивної і антибактеріальної терапії, наявність гормональних (діабет) та гематологічних захворювань, злоякісних пухлин, важких травм, опіків, значних хірургічних втручань (трансплантації органів, тощо). Зростає кількість опортуністичних мікозів (кандидози, аспергільози, пеніцильози), які виникають у осіб з імунодефіцитами.

На занятті студентам надається можливість ознайомитись з класифікацією та біологічними властивостями патогенних грибів і актиноміцетів. Вивчити патогенез, діагностику, профілактику і лікування захворювань, які вони викликають.

Все це зумовлює актуальність теми заняття та спрямовує на формування позитивної мотивації її вивчення.

Конкретні цілі:

- Визначити токсологічне положення і біологічні властивості грибів і актиноміцетів.
- Ознайомитись з епідеміологією і патогенезом захворювань, викликаних патогенними грибами і актиноміцетами.
- Засвоїти принципи мікробіологічної діагностики мікозів (дерматомікозів, кандидозів).
- Вивчити препарати, які використовуються для діагностики і лікування мікотичної інфекції і актиномікозів.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивитись протокол №34.

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

Термін	Визначення
Актиноміцети	<p>Одноклітинні грампозитивні мікроорганізми, що відносяться до порядку <i>Actinomycetales</i>, родини <i>Actinomycetaceae</i> та <i>Streptomycetaceae</i>. За зовнішнім виглядом актиноміцети схожі з міцеліальними грибами. Тіло більшості актиноміцетів мають форму тонких (0,2-2 мкм) розгалужених ниток гіфів, які на щільних середовищах утворюють субстратний і повітряний міцелій. Крім міцелярної форми, зустрічаються паличковидні і коковидні форми. Від грибів актиноміцети відрізняються будовою ядра (нуклеоїд), клітинною стінкою (мають пептидоглікани і не мають хітин і целюлозу).</p> <p>Основне середовище існування актиноміцетів – ґрунт, але вони постійно знаходяться в повітрі, у воді, на різних предметах, покровах рослин і тварин. Є представниками нормальної мікрофлори людини. Актиноміцети мають значну синтетичну активність, їх використовують для одержання антибіотиків, вітамінів, ферментів, амінокислот тощо. До родини <i>Actinomycetaceae</i> входять 370 видів, але тільки деякі з них патогенні для людини (<i>A. bovis</i>, <i>A. israelii</i>).</p>
Актиномікоз	<p>Хронічне гранульоматозне і гнійне захворювання різних тканин і органів людини і тварин, що викликаються актиноміцетами. Основні збудники актиномікозів людини – <i>A. israelii</i> та <i>A. bovis</i>. При актиномікозах формуються гранульоми, які з часом некротично розпадаються з утворенням гною, що виходить через свічки на шкіри і слизових. В гної різної консистенції часто містяться друзи (зерна), що складаються зі скупчення міцелію актиноміцетів, на периферії яких радіально (подібно до променів сонця) відходять гіфи з потовщенням на кінцях.</p>
Гриби	<p>Велике царство еукаріотичних, в більшості гетеротрофних організмів, що не мають хлорофілу. Більшість грибів сапрофіти, які живляться мертвими органічними речовинами. Значна група грибів є паразитами рослин, тварин і людей. На поживних середовищах гриби мають субстратний (вегетативний) і повітряний (репродуктивний) міцелій. Морфологія репродуктивного міцелію дуже різноманітна, особливо в культурах на штучних поживних середовищах. В організмі людей патогенні гриби (тканинні форми) значно відрізняються від культуральних, частіше вони зустрічаються у вигляді окремих гіфів або клітин, що враховуються при лабораторній діагностиці мікозів.</p>
Мікози	<p>Захворювання, що викликаються патогенними та умовно-патогенними грибами. Близько 100 видів грибів можуть</p>

	<p>спричиняти захворювання у людей, більшість з них належать до дейтероміцетів, деякі до аскоміцетів або зигоміцетів.</p> <p>Розрізняють такі основні групи грибних захворювань людини:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Поверхневі мікози, при яких уражається роговий шар епідермісу і поверхні волосяних стержнів. 2. Дерматомикози – ураження шкіри, її придатків, волосся і нігтів. 3. Підшкірні мікози – патологічний процес первинно локалізується в тканинах під шкірою, рідко у м'язах, кістках і суглобах. 4. Системні (респіраторні) мікози – первинне вогнище розмноження грибів у легенях, рідше зустрічаються дисеміновані форми з ураженням будь-яких внутрішніх органів (глибокі мікози). 5. Опортуністичні мікози (аспергільози, пеніцильози, кандидози) – виникають у осіб з імунодефіцитами.
<p>Дерматомикози</p>	<p>Грибкові захворювання шкіри, її придатків і підшкірної клітковини мають загальну назву дерматомикози. Залежно від роду і виду збудників та реакції організму на їх проникнення розрізняють такі види дерматомикозів: епідермофітія, руброфітія, трихофітія, мікроспорія і фавус (парша).</p> <p>Епідермофітія. За клінічною картиною і найчастішою локалізацією патологічного процесу виділяють дві форми цього захворювання: пахвинна епідермофітія і епідермофітія стопи. Пахвинну форму викликає <i>Epidermophyton floccosum</i> (син. <i>E. inguinale</i>). Збудником епідермофітії стоп є <i>Epidermophyton interdigitale</i> (син. <i>Trichophyton mentagotophytes</i>). Обидві форми захворювання зустрічаються лише у людей і поширені в усіх країнах світу.</p> <p>Руброфітія (рубромікоз) – хронічне грибкове захворювання з переважним ураженням шкіри стоп і кистей, нігтів, великих складок, пушкових волосків, рідше – шкіри кінцівок і всього тулуба. Збудник – <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>Трихофітія (стригучий лишай) – дерматомикоз, що спричиняється грибами роду <i>Trichophyton</i>. Найважливішими з них є антропофіли <i>Trichophyton tonsurans</i> і <i>T. violaceum</i>. При поверхневій трихофітії уражується шкіра і волосиста частина голови. Хронічні форми трихофітії супроводжуються ураженням нігтів, глибоких шарів шкіри і навіть внутрішніх органів.</p> <p>Фавус (парша) – хронічне глибоке захворювання шкіри, волосся і нігтів. Зустрічаються в усіх країнах світу, в Україні останнім часом реєструється дуже рідко. У переважній більшості випадків збудником є антропофіл <i>Trichophyton schonleini</i> (<i>Achorion schonleini</i>). Найхарактернішою ознакою фавуса є утворення скутул (фавозних щитків) – круглих, плоских або блюдцеподібних структур діаметром 2-3 см, спаяних зі шкірою.</p>

	Вони мають жовтий колір, крихку консистенцію, складаються з уражених епітеліальних клітин і елементів грибів. Уражені волосини міцно з'єднані в товщі скутулами, але залишаються довгими і сухими, набувають сірого кольору.
Глибокі (вісцеральні) мікози	<p>Збудниками глибоких мікозів є гриби, що знаходяться в ґрунті та органічних субстратах лише у певних географічних зонах, де значна частина людей інфікована ними. Початок хвороби має безсимптомний перебіг і лише у небагатьох осіб вона може призвести до розвитку тяжких форм або смерті.</p> <p>Криптококоз (європейський бластомікоз) – один із мікозів, що має гострий, підгострий або хронічний перебіг, поширений повсюдно, але зустрічається порівняно рідко, переважно в європейських країнах. Збудник – <i>Cryptococcus neoformans</i>.</p> <p>Північноамериканський бластомікоз – антропозоофі-льний мікоз з ураженням шкіри, слизових оболонок, внутрішніх органів і кісток, ендемічних для Канади і США. Збудник – <i>Blastomyces dermatitides</i>. Північноамериканський бластомікоз характеризується хронічним перебігом й ураженням шкіри обличчя, рук, сідниць; порівняно рідко уражаються внутрішні органи.</p> <p>Паракоцидоїдоз (південноамериканський бластомікоз) – хронічний глибокий мікоз, розповсюджений в країнах Південної Америки. Частіше хворіють люди від 30 до 50 років. Збудником є двофазний гриб <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>. Уражаються спочатку слизова оболонка рото- і носоглотки, шкіра, особливо навколоанальної зони. Пізніше процес переходить у лімфатичні вузли та внутрішні органи (легені, печінку, шлунок, селезінку).</p> <p>Кокцидоїдоз – гострий або хронічний глибокий системний особливо небезпечний мікоз людей і тварин, що викликається <i>Coccidioides immitis</i>. Хвороба ендемічна для США і Латинської Америки. Уражаються шкіра, підшкірна клітковина, легені та інші внутрішні органи і кістки.</p> <p>Гістоплазмоз – широко розповсюджений хронічний системний мікоз. Збудник американського гістоплазмозу – <i>Histoplasma capsulatum</i>, африканського <i>H. duboisii</i>. Гриби мають тканинну (дріжджову) і культуральну (міцелярну) форми. Гістоплазми вибірково проникають у клітини лімфоїдно-макрофагальної системи, а потім руйнують їх, при цьому утворюються вогнища некрозу в різних органах і тканинах (особливо в легенях, селезінці та ін.), із значною петрифікацією, що зумовлює їх морфологічну подібність до вогнищ туберкульозу.</p> <p>Споротрихоз (хвороба Шенка) – хронічний глибокий мікоз, що уражує слизові оболонки, мигдалики, шкіру, підшкірну клітковину, лімфовузли, рідше внутрішні органи і кістки. Збудником хвороби є <i>Sporotrichum schenckii</i>. Зустрічається в</p>

	<p>багатьох країнах світу. Хворіють переважно чоловіки у віці 25-40, які контактують із рослинами і деревиною.</p> <p>Збудник проникає в організм при пораненні, через садна шкіри у підшкірну клітковину і лімфатичні вузли, утворює дрібні гуми в глотці, м'язах, синовіальних оболонках, а також спричиняє абсцеси кісток, суглобів, м'язів і внутрішніх органів.</p> <p>Хромомікоз (тропічний бластомікоз) – хронічне захворювання шкіри, підшкірної клітковини і внутрішніх органів, яке супроводжується утворенням бородавчастих, папіломатозних розростань, дрібних і великих абсцесів та гранульоматозних вогнищ. Найчастіше хромомікоз викликає <i>Phialophora verrucosa</i>, значно рідше – інші види дейтеромицетів.</p>
<p>Плісняві (цвільові) мікози</p>	<p>До цієї групи мікозів належать різноманітні грибкові захворювання легень, шкіри, нігтів, внутрішніх органів тощо. Залежно від збудника, їх називають аспергільозами, пеніцильозами, мукорозами та ін. Вони виникають, як правило, у людей з імунодефіцитами або мають професійний характер (борошномели, пивовари, робітники пеніцилінових заводів тощо).</p> <p>Аспергільоз – мікоз, який викликають різні види грибів роду <i>Aspergillus</i>. Основним збудником є <i>Aspergillus fumigatus</i>, інші види – <i>A. niger</i>, <i>A. flavus</i>, <i>A. nidulans</i> – зустрічаються рідше. У людей аспергіли уражають шкіру, легені, бронхи, приносіві пазухи, рогівку очей, нігті, зовнішні слухові проходи, внутрішні органи і тканини.</p> <p>Пеніцильоз – опортуністичний мікоз, при якому спостерігаються ураження шкіри, нігтів, слизової оболонки ротоглотки, зовнішніх слухових проходів, легень та інших внутрішніх органів, спричинених різними видами грибів роду <i>Penicillium</i>: <i>P. crustosum</i>, <i>P. notatum</i>, <i>P. glaucum</i> та ін. Всі вони менш патогенні, ніж аспергіли, і тому дуже рідко викликають захворювання, здебільшого у осіб із різними імунодефіцитами.</p> <p>Мукороз (фікомікоз) – хронічний глибокий мікоз, що викликається різними видами грибів родини <i>Mucoraceae</i>: <i>Absidia corymbifera</i>, <i>Mucor mucedo</i>, <i>Rhizopus nigricans</i>. Захворювання супроводжується ураженням шкіри, підшкірної клітковини, органів дихання, вух, очей і центральної нервової системи.</p> <p>Пневмоцистоз – класичний опортуністичний мікоз, що супроводжується розвитком інтерстиціальної пневмонії. Збудник захворювання – <i>Pneumocystis carinii</i> – донедавна відносили до найпростіших. Тепер встановлено, що він є дріжджовим грибом класу <i>Blastomycetes</i>. Хвороба розвивається на фоні пригнічення імунологічної реактивності.</p>
<p>Кандидоз</p>	<p>Кандидоз (кандидомікоз) – опортуністична інфекційна хвороба шкіри, слизових оболонок і внутрішніх органів, яку викликають</p>

дріжджові гриби роду *Candida* родини *Cryptococcaceae* класу дейтероміцетів. Із 80 видів грибів роду *Candida* близько 20 патогенні для людини. Основним збудником є *Candida albicans*, значно рідше – *C. tropicales*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*.

Кандидоз зустрічається найчастіше як ускладнення після багатьох інфекційних захворювань, при довготривалому нераціональному лікуванні антибіотиками і антисептиками, які пригнічують нормальну мікрофлору організму, при первинних і вторинних імунодефіцитах у хворих на діабет, при авітамінозах і гормональних розладах. Виділяють чотири основні форми кандидозів:

1. Локальні – ураження шкіри, нігтів, нігтьових валиків, слизових оболонок рота, глотки, вагіни, вульви з утворенням білих плівок.
2. Системні – ураження дихальних шляхів, кишечника, сечостатевої та центральної нервової системи.
3. Генералізовані – хронічний гранульоматозний кандидоз, септикопемія.
4. Вторинні (алергічні) кандидози – на фоні сенсibilізації організму виникають нові вогнища запалення, в яких збудник відсутній.

Теоретичні питання до заняття:

- Класифікація грибів. Морфологія і культуральні властивості грибів.
- Гриби патогенні для людини. Хвороби, які вони викликають.
- Принципи мікробіологічної діагностики мікозів.
- Кандидози. Патогенез, діагностика і лікування.
- Збудники дерматомикозів. Патогенез, лабораторна діагностика. Лікування.
- Таксономічне положення і основні біологічні властивості актиноміцетів.
- Що зближує актиноміцети з грибами.
- Роль актиноміцетів в патології людини. Патогенез, діагностика, лікування актиноміцетів.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Вивчити класифікацію і основні біологічні властивості грибів і актиноміцетів.
- Вивчити морфологічні і культуральні властивості грибів і актиноміцетів на живих культурах, фарбування за Грамом і метиленовою синьою.
- Ознайомитись з епідеміологією і патогенезом мікозів. Проаналізувати схеми мікробіологічної діагностики дерматомикозів і кандидозів.
- Ознайомитись з препаратами для діагностики та лікування мікозів і актиномікозів.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають класифікацію і біологічні властивості грибів і актиноміцетів, знайомляться з патогенезом, діагностикою і

лікуванням захворювань, які викликаються патогенними представниками цих мікроорганізмів; вивчають під мікроскопом нативні і зафарбовані препарати актиноміцетів, грибів роду *Candida*, аспергілла, пеніцилла, мукора. Студенти аналізують методи лабораторної діагностики. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу.

Основні збудники мікозів людини і їх локалізація

Тип мікозів	Збудник	Анатомічна локалізація
Шкірні		
Епідермофітія Мікроспорія Трихофітія Парша	<i>Epidermophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Trichophyton</i> <i>Achorion</i>	Епідерміс, волосся, нігті
Підшкірні		
Споротрихоз Хромобластомікоз Міцетома	<i>Sporothrix</i> <i>Fonseca pedrosai</i> Різні види грибів	Шкіра та підшкірна тканина
Системні		
Кокцидіоїдоз Гістоплазмоз Криптококоз Бластомікоз	<i>Coccidioides</i> <i>Histoplasma</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Blastomyces</i>	Внутрішні органи
Опортуністичні		
Кандидози Мукорози Аспергільоз Пневмоцитоз	<i>Candida</i> <i>Mucor</i> <i>Aspergillus</i> <i>Pneumocystis carinii</i>	Внутрішні органи

Методи лабораторної діагностики мікозів

Патологічний матеріал:

зскрібки зі шкіри і нігтів, уражене волосся, гній, харкотиння, пунктати лімфовузлів і кісткового мозку, кров, сеча, жовч, випорожнення, біоптати тканин та інше.

1. Мікроскопія.

Досліджують нативні (незафарбовані) і забарвлені препарати, зроблені з патологічного матеріалу. Нативні препарати, виготовлених з лусочок шкіри, нігтів, волосся, попередньо обробляють 10-30% КОН або NaOH з підігрівом над полум'ям пальника, досліджують під світловим мікроскопом, використовуючи сухі об'єктиви (8x, 40x).

Забарвлені препарати виготовляють з в'язкого і рідкого матеріалу (гною, виділень нориць, грануляцій тощо), фіксують формаліном або сумішшю

Нікіфорова, фарбують за Грамом, метиленою синькою, Романовського-Гімза чи іншими методами; досліджують за допомогою імерсійного об'єктиву (90x).

В нативних препаратах визначають характер розташування спор грибів у волосках, міцелію в уражених шкірних лусочках і нігтях, що має діагностичне значення. В зафарбованих мазках виявляють окремі елементи грибів та їх тонкі структури.

2. Мікологічні (культуральні) дослідження.

Патологічний матеріал сіють (при необхідності кількісним методом) на щільне середовище (Сабуро, Чапека, сусло- та глюкозно-кров'яний агар) та рідкі середовища (глюкозний МПБ, Сабуро, пивне сусло). До стерильних середовищ перед посівом додають антибіотики (пеніцилін, стрептоміцин, хроламфенікол) для пригнічення росту супутньої бактеріальної мікрофлори.

Посіви вирощують в термостаті при температурі 22-30° протягом 2-3 тижнів, колонії деяких грибів, наприклад кандиди, з'являються на 2-3 день після посіву.

Виділені культури грибів ідентифікують за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенцією, кольором та мікроструктурою, тобто характером міцелію, розташуванням конідієносців, спор та іншими ознаками. У деяких видів грибів вивчаються ферментативні властивості. Так для ідентифікації грибів роду *Candida* вивчають їх здатність розкладати вуглеводи (глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу) до кислоти й газу, утворювати хламідоспори та «ростові трубки» в сироватці крові (RB-фактори).

3. Серологічна діагностика.

Проводиться здебільшого при вісцеральних (глибоких) мікозах. Використовують реакції зв'язування комплементу (з екстрактом грибиці збудника), преципітації, непрямой гемаглютинації, зустрічного імуноелектрофорезу, ІФА з парними сироватками. Результати вважають позитивними при наростанні титру відповідних антитіл в 4 і більше разів.

4. Експрес-метод.

За допомогою РІФ виявляють морфологічні структури грибів або їх антигени в клінічному матеріалі. Препарати клінічного матеріалу обробляють флюоресуючими сироватками з різних видів грибів.

5. Алергічні проби.

Для виявлення мікологічної алергії проводять постановку скарифікаційних і внутрішньо-шкірних проб з відповідними алергенами грибів. Діагностичну цінність ці проби мають в першу чергу при гістоплазмозі і кокцидіозі.

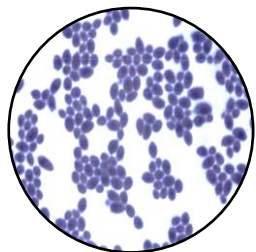
6. Біологічний метод.

Використовують при глибоких і особливо небезпечних мікозах для виділення культури збудника, визначення його патогенності, ідентифікації тканинних форм грибів. Найбільш придатними тваринами є лінійні білі миші та золотисті хом'ячки, окрім них використовують гвінейські свинки, щури, кролики, собаки і коти. Досліджуваний матеріал вводять різними шляхами. Внутрішньошкірне зараження найчастіше проводять дерматофітами, інтраназальне і внутрішньочеревне – особливо небезпечними грибами, інтрацеребральне – при криптококозах, кладоспориозах, кандидозах.

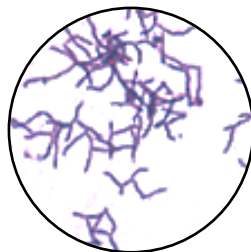
7. Генетичний метод.

Швидке виявлення грибів або їх нуклеїнової кислоти у патологічному матеріалі здійснюється методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

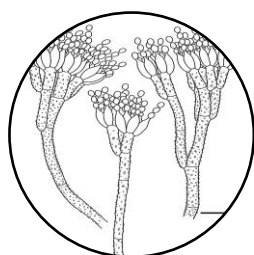
Робота №1. Розглянути під мікроскопом музейні препарати патогенних грибів і актиноміцетів та замалювати.



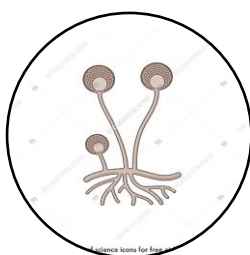
Candida albicans



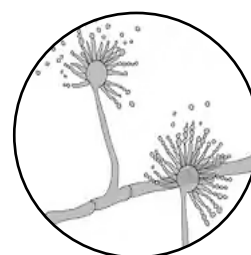
Actinomyces israelii



Penicillium



Mucor



Aspergillus

Питання для самоконтролю:

- Класифікація і біологічні властивості грибів.
- Які захворювання викликають гриби?
- Морфологічна і біологічна характеристика збудників дерматомікозів, назви захворювань?
- Кандидози. Характеристика збудників кандидозів, патогенез, діагностика і лікування.
- Методи лабораторної діагностики мікозів.
- Які препарати використовують для діагностики і лікування дерматомікозів, кандидозів і системних мікозів?
- Таксономічне положення і основні біологічні властивості актиноміцетів?
- Роль актиноміцетів в патології людини. Види патогенних актиноміцетів.

Практичне заняття №39

Тема: «Патогенні найпростіші. Мікробіологічна діагностика протозойних захворювань»

Актуальність теми:

Найпростіші (протисти) широко представлені на нашій планеті і мешкають в різних середовищах – в морях і океанах, прісних водах, в ґрунті. Найпростіші є одноклітинними організмами, в яких органоїди виконують функцію органів. Багато найпростіших пристосувалися до паразитизму або до коменсального способу життя в тілі інших організмів – рослин, тварин, людини.

Найбільше значення для медицини мають паразитичні найпростіші, що належать до чотирьох типів: *Apicomplexa*, *Sarcomastigophora*, *Ciliophora* та *Microspora*.

Паразитарні хвороби людини, що спричинені найпростішими, мають важливу соціальну і економічну значимість. Актуальність проблеми загально визнана і обумовлена широким розповсюдженням інвазій найпростішими серед населення.

Антропогенний вплив на оточуюче середовище призвів до утворення нових біотопів паразитарних найпростіших, а стан довкілля, несприятливі соціально-економічні умови сприяють високому рівню поширення захворювань, що викликані найпростішими. Крім того, останнім часом відзначається зміна вірулентності і патогенності цілого ряду паразитарних мікроорганізмів, в результаті цього багато паразитарних захворювань перебігають в хронічній формі. Це обумовлює розвиток вторинного імунodefіциту, затримку фізичного і психічного здоров'я дітей і зниження працездатності дорослих.

Звідси випливає необхідність посилення всебічного вивчення паразитарних хвороб, різноманітності шляхів і факторів їх передачі, науково-обґрунтованої системи профілактики.

Конкретні цілі:

- Визначити таксономічне положення і біологічні властивості найпростіших.
- Ознайомитись з епідеміологією і патогенезом захворювань, що викликані найпростішими.
- Оволодіти методами лабораторної діагностики захворювань, що викликаються найпростішими (малярія, лейшманіоз, трипаносомоз).
- Вивчити препарати для діагностики, лікування та профілактики, що використовуються в медичній протистології.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивитись практичне заняття №34.

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

Термін	Визначення
Медична протозоологія	Розділ загальної протозоології, в якому вивчаються найпростіші, що спричиняють захворювання (інвазії) у людей
Малярія (пропасниця, болотна лихоманка)	Гостра або хронічна ендемічна трансмісивна хвороба, що характеризується приступами лихоманки, збільшенням печінки й селезінки, гемолітичною анемією, рецидивуючим перебігом.
Збудники малярії	За захворювання у людей викликають 5 видів малярійних плазмодіїв: <i>Plasmodium vivax</i> – збудник триденної форми малярії; <i>Plasmodium ovale</i> – викликає триденну овале-малярію; <i>Plasmodium malariae</i> – збудник чотириденної форми малярії; <i>Plasmodium falciparum</i> – викликає тропічну малярію; <i>Plasmodium knowlesi</i> – збудник малярії, часто зустрічається в довгохвостих і івинохвостих макак. Паразитує в людини (зооантропоноз) і є єдиним малярійним паразитом приматів з 24-годинним еритроцитарним циклом. У процесі своєї життєдіяльності плазмодії проходять складний цикл розвитку зі зміною хазяїна. Він складається з двох фаз: статеві (спорогонії) та безстатеві (шизогонії). Спорогонія відбувається у клітинах епітелію ШКТ самки комара. Шизогонія – в організмі його проміжного господаря – людини
Токсоплазмоз	Гронічна паразитарна хвороба, що характеризується ураженням нервової й лімфатичної систем, скелетних м'язів, міокарда, печінки, селезінки, кишкового тракту, очей, а також плода
Збудник токсоплазмозу	Збудником хвороби є <i>Toxoplasma gondii</i> , яка належить до родини <i>Eimeriidae</i> , класу <i>Sporozoa</i> . За своєю формою токсоплазми нагадують дольку апельсина завдовжки 4-7 мкм, завширшки 2-4 мкм. Один полюс збудника загострений, другий злегка заокруглений
Лейшманіоз	Група хронічних антропонозних трансмісивних хвороб, які викликаються лейшманіями і передаються москітами; поширені серед населення тропічних і субтропічних країн
Збудники лейшманіозу	Розрізняють шкірний лейшманіоз, який викликається <i>Leishmania tropica</i> і характеризується ураженням шкіри; шкірно-слизовий лейшманіоз, збудником якого є <i>Leishmania brasiliensis</i> , супроводжується ураженням шкіри і слизових оболонок; вісцеральний лейшманіоз, що викликається <i>Leishmania donovani</i> , характеризується переважним ураженням внутрішніх органів. Кожен із трьох видів лейшманіозів реєструється в певних ендемічних регіонах планети.

Життєвий цикл цих паразитів складається з двох стадій: безджгутикової (амастиготної) – в організмі людини і джгутикової (промастиготної) – в тілі москіта. Безджгутикові форми є внутрішньоклітинними паразитами системи мононуклеарних фагоцитів, мають овальну форму, розміри 3-5 мкм у довжину і 1-3 мкм у ширину. Джгутикові форми більші за розміром (10-15×4-6 мкм), монотрихи, активно рухливі, добре культивуються на поживних середовищах.

Теоретичні питання до заняття:

- Класифікація найпростіших. Морфологія і біологічні властивості найпростіших.
- Відмінності між найпростішими та прокаріотами.
- Патогенні для людини найпростіші. Хвороби, які вони викликають.
- Малярія. Джерело і механізм передачі інфекції. Патогенез захворювання, цикли розвитку малярійного плазмодія. Лабораторна діагностика малярії.
- Токсоплазмоз. Морфологічні особливості збудника. Джерело і механізм передачі інфекції, основні клінічні прояви. Методи лабораторної діагностики.
- Лейшманіоз. Морфологічні особливості збудника. Джерело і механізм передачі інфекції, основні клінічні прояви. Методи лабораторної діагностики.
- Амебіаз. Морфологічні особливості збудника. Джерело і механізм передачі інфекції, основні клінічні прояви. Методи лабораторної діагностики.
- Трипаносомоз. Морфологічні особливості збудника. Джерело і механізм передачі інфекції, основні клінічні прояви. Методи лабораторної діагностики.
- Лямбліоз. Морфологічні особливості збудника. Джерело і механізм передачі інфекції, основні клінічні прояви. Методи лабораторної діагностики.

Практичні роботи (завдання), які виконуються на занятті:

- Створити схеми мікробіологічної діагностики токсоплазмозу та лейшманіозу.
- Ознайомитися з методами лабораторної діагностики малярії, лейшманіозу, трипаносомозу, амебіазу, токсоплазмозу та лямбліозу.
- Оволодіти методикою виготовлення препаратів із досліджуваного матеріалу при малярії, лейшманіозі, трипаносомозі, амебіазі, токсоплазмозі та лямбліозі.
- Вивчити препарати, які використовують для діагностики, терапії та профілактики захворювань, що спричиняються найпростішими.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти вивчають історію відкриття та вивчення найпростіших, їх біологічні властивості, закономірності патогенезу, особливості імунітету, методи діагностики малярії, лейшманіозу, трипаносомозу, амебіазу, токсоплазмозу та лямбліозу, препарати для діагностики, терапії та профілактики захворювань, що спричиняються даними збудниками.

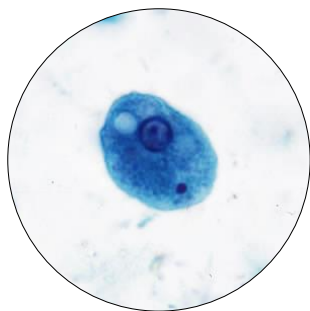
Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу

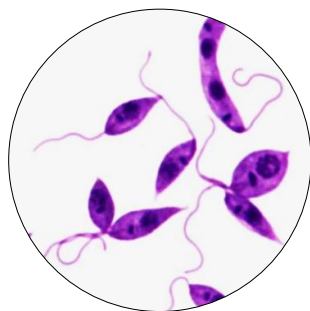
Диференціальні ознаки малярійних плазмодіїв

Форми паразитів, еритроцити	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium knowlesi</i>
Молоді шизонти (кільця)	Кільця неправильної форми, займають $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{4}$ діаметра еритроцита	Такі самі за розмірами, як і в <i>P. vivax</i> , але з більшим ядром	Такі самі, як і в <i>P. vivax</i>	Дрібні кільця займають $\frac{1}{8}$ діаметра еритроцита, часто по 2-3 кільця в еритроциті	Ранні трофозоїти характеризуються появою кільцеподібної цитоплазми, яка охоплює вакуолю з крапкою круглого ядерного хроматину, що виступає з цитоплазми. Кільцева форма трофозоїта займає приблизно від третини до половини діаметра зараженого еритроцита
Дорослі (амебоїдні) шизонти	Мають добре виражені псевдоподії	Псевдоподії нечіткі, частина шизонтів стрічкоподібної форми	Такі самі, як і в <i>P. ovale</i>	У периферичній крові не виявляють, як правило	Цитоплазма пізніх трофозоїтів <i>P. knowlesi</i> злегка амебоїдної та неправильної форми із збереженими вакуолями. Пізні трофозоїти мають розміри від 3 до 5 мкм.
Морула	12-18 мерозоїтів розташові навколо пігмента	6-12 великих мерозоїтів, ядра крупніші	6-12, частіше 8 мерозоїтів, розташованих у вигляді розетки	12-24, частіше 16 дрібних мерозоїтів розташовані безладно навколо пігмента	Максимальна кількість 16 мерозоїтів у зрілих шизонтів. Розділені хроматинові маси та мерозоїти в молодих та зрілих шизонтах безладно розкидані або зібрані у вигляді грона, подібного до винограду
Гамонти	Круглої або овальної форми, за розміром більші від нормального еритроцита	Такі самі, як і в <i>P. vivax</i>	Меншого розміру, ніж у <i>P. vivax</i> , не більше від нормального еритроцита	Бананоподібної форми, цитоплазма синьо-бузкова, компактне ядро	Зрілі гаметоцити характеризуються сферичною формою, що займає більшу частину зараженого еритроцита, хроматин компактний, темно-коричневий забарвлення, нерівномірно розсіяний
Еритроцити	Збільшені і знебарвлені, азурофільні елементи у вигляді точок (зернистість Шюффера)	25 % еритроцитів збільшені, овальної, азурофільні елементи у вигляді великих зерен (зернистість Джеймса)	Нормальних розмірів, азурофільні елементи у вигляді дрібних пилинок (зернистість Цимана)	Нормальних розмірів, азурофільні елементи у вигляді плям (плямистість Маурера)	У всіх еритроцитах, що містять ранні трофозоїти <i>P. knowlesi</i> , збільшення еритроцитів та зернистість не спостерігається.

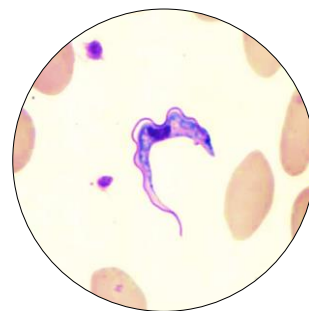
Завдання № 1. Замалювати з демонстраційних препаратів найпростіші, з висвітленням особливостей будови даних мікроорганізмів.



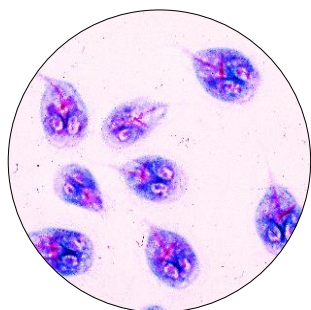
Entamoeba histolytica,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)



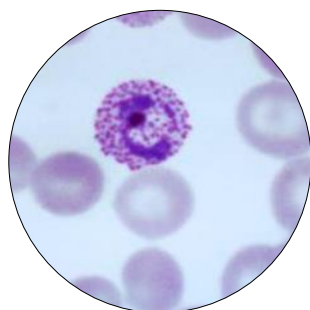
Leishmania donovani,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)



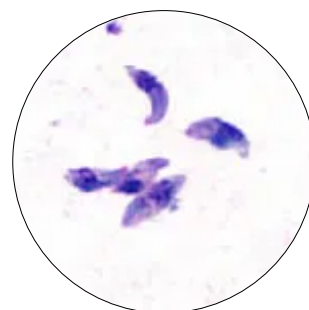
Trypanosoma brucei,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)



Lamblia intestinalis,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)

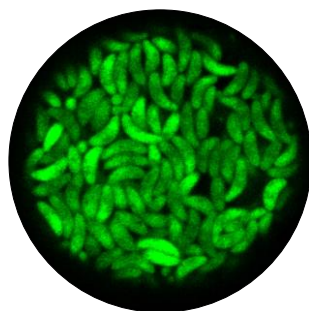


Plasmodium vivax,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)



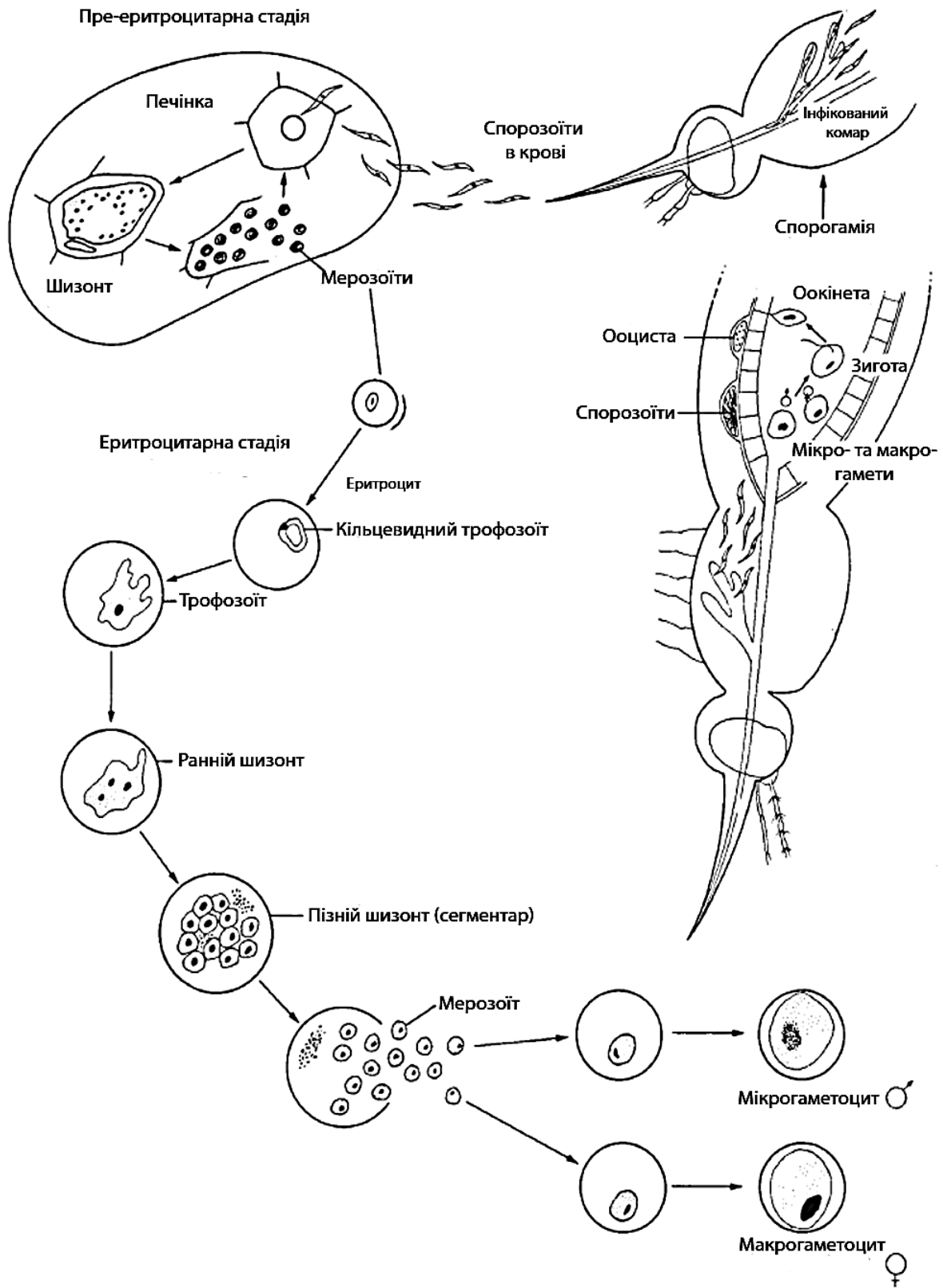
Toxoplasma gondii,
(фарб. за Романовським
-Гімзою)

Завдання № 2. Провести облік результатів реакції імунної флюоресценції (РІФ) при токсоплазмі.



Пунктат з лімфатичного вузла

Завдання № 3. Схема життєвого циклу *Plasmodium vivax*



Завдання № 4. Схеми мікробіологічної діагностики інфекцій викликаних найпростішими.

Схема мікробіологічної діагностики токсоплазмозу

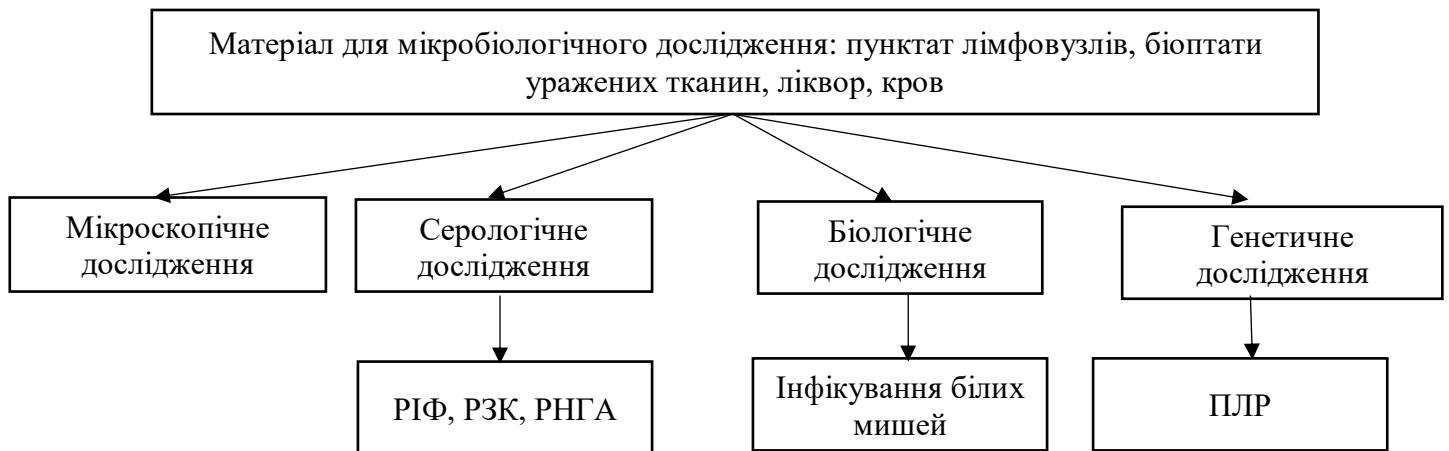


Схема мікробіологічної діагностики амєбіазу



Завдання № 5. Вказати препарати, що використовуються для лікування захворювань, які викликаються найпростішими.

1. Препарати, що використовуються для лікування **лейшманіозу**:
солісурмін, глюкантим, мономіцин, амінохінол.
2. Препарати, що використовуються для хіміопрофілактики та лікування **малярії**:
хінін, мефлохін, акрихін, примахін, бімугаль.
3. Препарати, що використовуються для лікування **токсоплазмозу**:
приметамін, сульфаніламід, спіраміцин.

Питання для самоконтролю:

- Морфологія плазмодіїв малярії.
- Безстатевий та статевий цикли розвитку плазмодіїв малярії.
- Епідеміологія та патогенез малярії, особливості імунітету.

- Методи лабораторної діагностики малярії. Диференціація видів малярійних плазмодіїв.
- Основні напрямки в профілактиці та лікуванні малярії.
- Морфологія та цикл розвитку збудників токсоплазмозу.
- Біологічні властивості збудників токсоплазмозу.
- Патогенез токсоплазмозу.
- Методи лабораторної діагностики токсоплазмозу, профілактика захворювання.
- Збудник амебіази. Морфологія. Патогенез захворювання.
- Лабораторна діагностика та профілактика амебіази.
- Морфологія, біологічні властивості лямблій.
- Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування лямбліозів.
- Трихомонади. Морфологія. Культивування.
- Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування трихомоніази.
- Лейшманії. Морфологія.
- Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування шкірного лейшманіозу.
- Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування вісцерального лейшманіозу.
- Трипаносоми. Морфологія. Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування африканського трипаносомозу.
- Патогенез, лабораторна діагностика, профілактика та лікування американського трипаносомозу.

Практичне заняття №40

Тема: «Клінічна мікробіологія»

Актуальність теми:

Клінічна мікробіологія – це розділ мікробіології, який вивчає умовно-патогенні мікроорганізми та захворювання, які вони викликають. Кількість опортуністичних інфекцій, тобто інфекцій, викликаних умовно-патогенними мікробами, на теперішній час збільшується. Вони є проблемою більшості неінфекційних клінік різного профілю. З ними пов'язані виникнення госпітальних інфекцій, часті випадки гнійно-запальних захворювань, які отримуються пацієнтами як екзогенним (від іншого пацієнта), так і ендогенним шляхом зараження. Приєднання опортуністичних інфекцій до основної хвороби ускладнює перебіг захворювання, підвищує летальність, частоту переходу в хронічний стан, тривалість перебування в стаціонарі.

Діагностика інфекцій, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами (УПМ) має певні труднощі. Це пов'язано з відсутністю специфічної клінічної картини і поліетіологічністю цих захворювань. Крім того, з патологічного матеріалу, взятого від хворих з локальними запальними процесами, як правило висіваються асоціації мікробів, які складаються зі збудника, представників нормальної мікрофлори ураженого органу та транзиторних мікроорганізмів. В зв'язку з цим, для визначення етіології інфекцій, викликаних УПМ, розробки раціональної терапії і їх профілактики обов'язковими є мікробіологічні дослідження з використанням ефективного набору диференціально-діагностичних середовищ, вивченням широкого спектру збудників, з застосуванням кількісних методів посіву.

В завдання клінічної мікробіології входять також такі актуальні питання, як стан нормальної мікрофлори людини, дисбактеріоз, чутливість мікробів до антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів, методи клініко-мікробіологічних досліджень. Все це зумовлює актуальність теми заняття та спрямоване на формування позитивної мотивації її вивчення.

Конкретні цілі:

- Визначити предмет і завдання клінічної мікробіології. Вивчити роль умовно-патогенних мікроорганізмів в патології людини, особливості етіології, клінічної картини і діагностики захворювань, які вони викликають.
- Ознайомитись з проблемою дисбіозу і госпітальних інфекцій. Вивчити біологічні властивості госпітальних штамів, шляхи зараження і виявлення джерел лікарняних інфекцій.
- Засвоїти методи мікробіологічної діагностики опортуністичних інфекцій та критерії оцінки етіологічної ролі умовно-патогенних мікроорганізмів в гнійно-запальних і лікарняних інфекціях.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція). Дивись практичне заняття №34.

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

Термін	Визначення
Клінічна мікробіологія	Розділ медичної мікробіології, який досліджує етіологію, патогенез, імунологію неепідемічних мікробних захворювань і розробляє методи їх мікробіологічної діагностики, специфічної терапії і профілактики. Об'єктами дослідження клінічної мікробіології являються головним чином умовно-патогенні мікроби та захворювання, що ними викликаються. В теперішній час кількість таких опортуністичних інфекцій збільшується і вони зустрічаються у пацієнтів неінфекційних клінік різного профілю. Крім того, в завдання клінічної мікробіології входять такі загальні питання, як госпітальні або внутрішньо лікарняні інфекції, нормальна мікрофлора, дисбактеріоз, чутливість мікробів до антибіотиків, антисептиків і дезінфектантів, методи клініко-мікробіологічних досліджень.
Госпітальна інфекція (внутрішньо-лікарняна, нозокоміальна)	Будь-яка інфекція, отримана пацієнтом у лікарні, незалежно від того, проявилась вона під час його перебування в лікарняному закладі, або після виписки, і незалежно від того, чи було зараження екзогенним (від іншого пацієнта), чи ендогенним (обумовленим активацією власної мікрофлори). Збудниками госпітальної інфекції можуть бути як облігатно-патогенні, так і умовно-патогенні мікроби. Більш важко перебігають госпітальні інфекції, обумовлені госпітальними ековарами бактерій. Такі інфекції розвиваються внаслідок екзогенного зараження природними для збудника шляхами передачі або внаслідок медичних втручань. Ендогенна госпітальна інфекція спостерігається при травмах, важких хірургічних втручаннях, радіо-, антибіотико-, гормоно- і імуносупресивній терапії, а також при інших явищах, при яких відбувається зниження природного імунітету. Приєднання госпітальної інфекції до основної хвороби підвищує летальність, частоту переходу в хронічний стан, тривалість перебування хворого в стаціонарі, витрати на догляд та лікування, трудові втрати.
Госпітальні ековари	Варіанти мікроорганізмів, що адаптовані до життя в лікарняних стаціонарах (екосистемах). Характеризуються множинною стійкістю до антибіотиків, підвищеною стійкістю до антисептиків, дезінфектантів, більш високою вірулентністю, антагоністичною активністю, внутрішньопопуляційною мінливістю, більш інтенсивним обміном генетичним матеріалом і підвищеною міграцією в умовах лікарні. Джерелом госпітальних ековарів є персонал і

	хворі, особливо ті, які тривало знаходяться на лікуванні в стаціонарі. Госпітальні ековари встановлені у <i>S.aureus</i> , <i>Ps.aeruginosa</i> (паличка синьо-зеленого гною), <i>S.typhimurium</i> , можливо є і інші види.
Ятрогенна інфекція	Це одна із форм госпітальних інфекцій, пов'язаних з медичними втручаннями (операції, ін'єкції, катетерування, бронхоскопія та інші інструментальні втручання).
Дисбіоз	Порушення стану динамічної рівноваги між нормальною мікрофлорою та організмом людини, при якому спостерігаються стабільні і тривалі кількісні та якісні зміни в складі нормальної мікрофлори, які виходять за межі фізіологічної норми. Основними причинами дисбіозу є зміна умов існування в біотопі, при яких популяція одного або декількох видів мікроорганізмів набувають невластиве їм домінуюче положення в мікробіоценозі. Виникнення дисбіозу може бути пов'язане з неконтрольним застосуванням антимікробних препаратів, зі зниженням імунітету, викликаним інфекційними і неінфекційними захворюваннями, застосуванням імунодепресивної, променевої та хіміотерапії, хірургічними втручаннями, нерациональним харчуванням, роботою або знаходженням в шкідливих умовах та інше. Стани дисбіозів супроводжуються розвитком інфекцій, діарей, запорів, гастритів, колітів, виразкової хвороби, злоякісних новоутворень, алергії, сечокам'яної хвороби, карієсу, артрити, ураження печінки та ін. Діагноз дисбіозу встановлюється бактеріологічними дослідженнями при використанні кількісних методик і багатовекторності (виділення багатьох видів і варіантів).
Умовно-патогенні мікроби (УПМ (опортуністичні, потенційно патогенні))	Мікроби, які здатні при зниженні резистентності макроорганізму спричинити захворювання, для яких характерна відсутність нозологічної специфічності. Найчастіше вони є представниками нормальної мікрофлори людини. Це велика група різноманітних по системному положенню мікроорганізмів (бактерії, гриби, найпростіші, віруси). Вони неінвазивні, не агресивні, не токсичні, не здатні до внутрішньоклітинного паразитування, впливають на організм переважно ендотоксинами і ферментами патогенності (гіалуронідаза, коагулаза, фібринолізин та інші), набір факторів патогенності змінюється від штаму до штаму і є мало специфічним. В сучасній патології велике значення мають представники ентеробактерій – <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> ; роди <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> та інші.

	Для епідеміології інфекцій, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами, характерне широке їх розповсюдження в лікарняних закладах, часті випадки ендогенної і автоінфекції, множинність джерел інфекції, часта і масивна контамінація об'єктів зовнішнього середовища збудниками, в більшості випадків порівняно невисока контагіозність хворих і носіїв.
Опортуністичні інфекції	Інфекції, викликані представниками нормальної, умовно-патогенної мікрофлори, коли захисні сили господаря послаблені або скомпроментовані.

Теоретичні питання до заняття:

- Які питання вивчає клінічна мікробіологія?
- Мікрофлора організму людини та її роль в нормі і патології.
- Дисбіоз. Причини розвитку і принципи діагностики дисбактеріозу.
- Біологічні властивості умовно-патогенних мікроорганізмів. Особливості етіології, патогенезу і мікробіологічної діагностики опортуністичних інфекцій.
- Лікарняні інфекції. Властивості госпітальних ековарів бактерій. Етіологія ятрогенних інфекцій. Виявлення джерел інфекцій.
- Методи мікробіологічної діагностики опортуністичних інфекцій та критерії оцінки результатів діагностики гнійно-запальних і лікарняних інфекцій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

- Створити схему мікробіологічної діагностики гнійно-запального процесу, викликаного УПМ. Засвоїти критерії оцінки етіологічної ролі умовно-патогенних мікроорганізмів при гнійно-запальних захворюваннях.
- Провести бактеріоскопічне дослідження гнійного матеріалу від хворого. Зробити висновок.
- Здійснити окремі етапи бактеріологічної діагностики гнійного процесу: зробити посів гною на різні поживні середовища з метою виділення ймовірних збудників інфекції. Ознайомитись з принципами ідентифікації УПМ.
- Визначити чутливість до антибіотиків збудників гнійно-запальних процесів.

Зміст теми:

На практичному занятті студенти повинні створити схему мікробіологічної діагностики гнійно-запальних процесів, самостійно провести бактеріоскопічне дослідження гнійного матеріалу від хворого; студенти здійснюють посів гною на різні поживні середовища з метою виділення ймовірних збудників інфекції, знайомляться з принципами ідентифікації УПМ, визначають чутливість бактерій до антибіотиків методом паперових дисків. Виконані завдання студенти записують у протокол та підписують його у викладача.

Рекомендації для оформлення протоколу.

Особливості умовно-патогенних бактерій.

- Не здатні до внутрішньоклітинного паразитування.

- Впливають на організм переважно ендотоксином.
- Продукують велику кількість екзоферментів (гіалуронідаза, еластаза, коагулаза, фібринолізин, нейрамінідаза, лецитиназа, нуклеази, дезамінази, декарбоксилази та ін.).
- Набір факторів патогенності варіюється від штаму до штаму і є мало специфічним.

Особливості лікарняних ековарів мікробів.

- Адаптація до умов лікарні.
- Підвищена популяційна мінливість.
- Інтенсивний обмін генетичним матеріалом.
- Підвищена вірулентність (селекціонуються шляхом пасажів на хворих в умовах лікарні).
- Множинна стійкість до антибіотиків та дезінфектантів.

Захворювання, що спричинюють умовно-патогенні мікроорганізми

№ п/п	Захворювання	Мікроорганізм-збудник
1	Раньові інфекції, гнійно-запальні захворювання шкіри, підшкірної жирової клітковини і інших тканин (фурункульоз, карбункульоз, абсцес, піодермія, флегмона, панарицій тощо).	Стафілококи, стрептококи, ентеробактерії, клебсієли, бактероїди, псевдомонади тощо.
2	Сепсис, септикопіємія.	Стафілококи, стрептококи, бактероїди, клебсієли, серратія, протей тощо.
3	Захворювання дихальної системи (ларингіт, трахеїт, бронхіт, пневмонія, плеврит тощо).	Віруси, мікоплазми, стафілококи, стрептококи, кишкова паличка, гриби роду кандіда, бактероїди тощо.
4	Захворювання центральної нервової системи (менінгіт, ускладнення після черепно-мозкової травми, нейрохірургічних операцій тощо).	Мікобактерії, лістерії, токсоплазми, віруси, стрептококи, ешеріхії, клебсієли, серратія, псевдомонади.
5	Захворювання очей, вух (кон'юнктивіти, отити тощо).	Бранхамели, мораксели, епідермальні стафілококи тощо.
6	Захворювання шлунково-кишкового тракту (харчові токсикоінфекції, дисбактеріоз кишечника тощо).	Ентеробактерії, протей, клебсієли, псевдомонади, не холерні вібріони, стафілококи, кандіди,

		кlostридії, бактероїди тощо.
7	Захворювання сечостатевої системи (гломерулонефрит, піелонефрит, пієліт, цистит, уретрит тощо).	Протей, кишкова паличка, синьо-гнійні бактерії, ціанобактерії, бактероїди тощо.

Критерії етіологічної ролі культур мікроорганізмів, виділених при бактеріологічній діагностиці внутрішньо лікарняних інфекцій.

- Виділення збудника з патологічного матеріалу, що в нормі є стерильним (кров, спинномозкова рідина).
- Висока концентрація мікробів в інфікованому матеріалі (не менше, ніж 10^5 бактерій, 10^3 - 10^4 грибів).
- Неодноразове виділення мікробів з матеріалу (з коротким інтервалом часу).
- Наявність факторів патогенності у виділених мікроорганізмів.
- Зростання титру антитіл до збудників в 4 і більше разів.
- Кореляція між чутливістю культур бактерій до антибіотиків та ефективністю антибіотикотерапії.
- Виділення ідентичних збудників від кількох хворих з подібною симптоматикою.
- Залежність кількості мікробів в інфікованому матеріалі від клінічних проявів.
- Належність виділеної культури до внутрішньо лікарняного штаму або ековару.

Препарати для корекції нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту.

Пробіотики – препарати, що містять бактерії, корисні для людини які являються представниками нормальної мікрофлори тіла людини.

Препарати на основі інактивованих мікроорганізмів (інактивована маса пробіотичної мікрофлори).

Пребіотики – препарати, які сприяють розвитку нормальної мікрофлори тіла людини.

Синбіотики – комбінація пробіотиків та пребіотиків.

Ентеросорбенти – лікувальні препарати, що впливають на нормальну мікрофлору тіла людини.

Препарати метаболічного типу – фізіологічні активні метаболіти пробіотичної мікрофлори

Продукти функціонального харчування

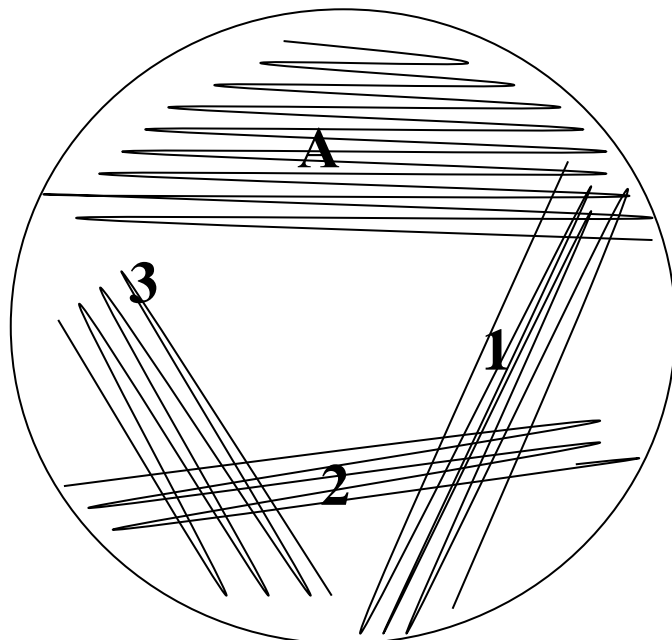
Нутріцевтики, харчові субстрати, що сприяють оздоровленню кишківника

Метод секторних посівів

Платиновою петлею, діаметром 2 мм, ємністю 0,005 мл, проводять посів сечі (30-40 штрихів) на сектор А чашки Петрі з простим поживним агаром. Після цього петлю пропалюють і проводять 4 штрихових посіва із сектора А в сектор 1 і аналогічним чином – із сектора 1 в сектор 2 і в 3.

Чашки інкубують при 37°C 18-24 год., після чого підраховують кількість колоній, що вирости в різних секторах.

Визначення ступеня бактеріурії за кількістю виділених колоній проводять згідно таблиці 1.

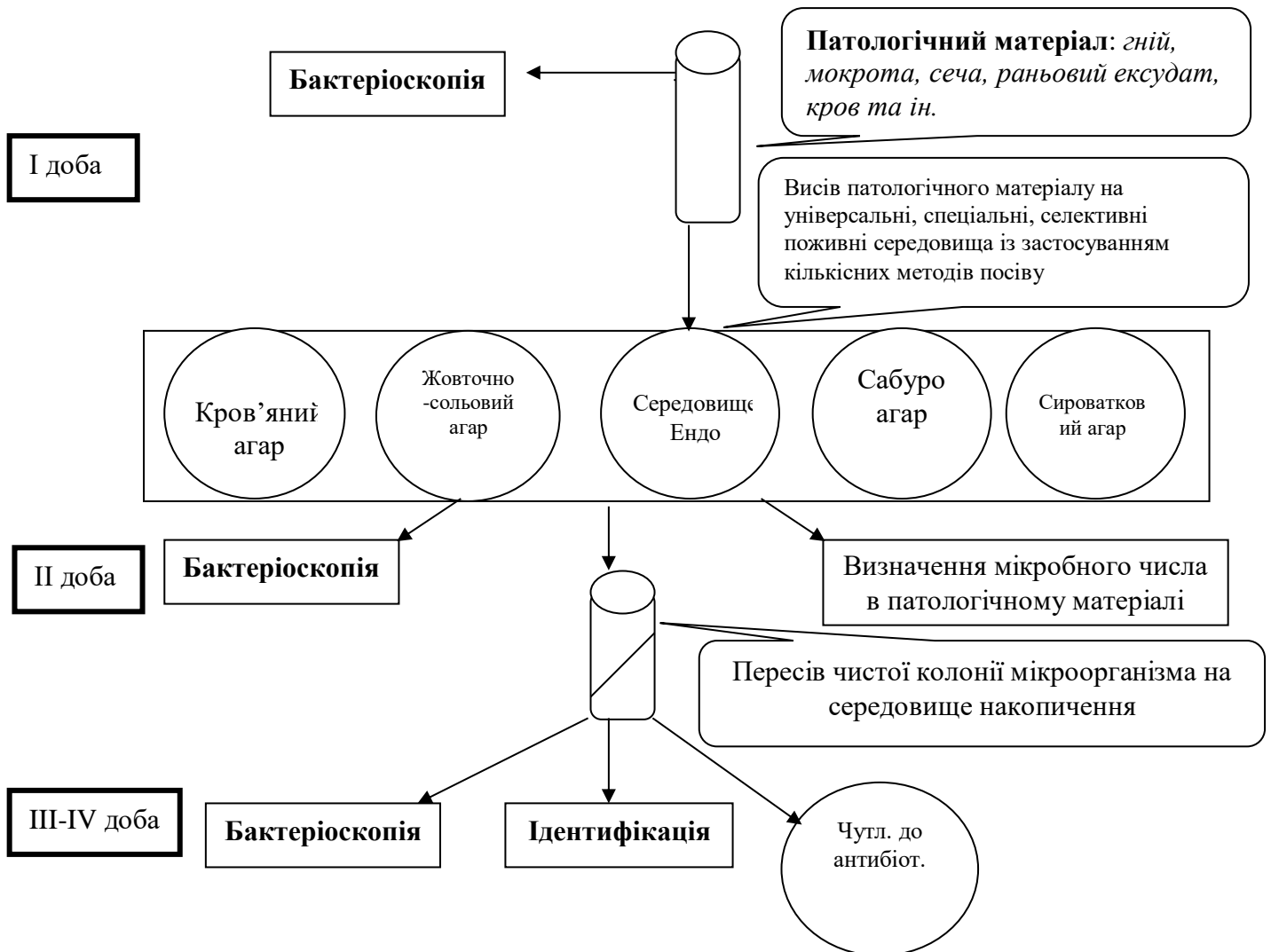


Таблиця №1

А	Кількість колоній в секторах			Кількість бактерій в 1мл сечі
	1	2	3	
1-6	-	-	-	Менше 1000
8-20	-	-	-	3000
20-30	-	-	-	5000
30-60	-	-	-	10 000
70-80	-	-	-	50 000
100-150	5-10	-	-	100 000
Не підрахув.	20-30	-	-	500 000
--«--«--	40-60	-	-	1 млн.
--«--«--	100-140	10-20	-	5 млн.
--«--«--	Не підрах.	30-40	-	10 млн
--«--«--	--«--«--	60-80	Колонії поодинокі	100 млн.

Метод секторних посівів дозволяє не тільки оцінити ступінь бактеріурії, але і виділити збудник захворювання в чистій культурі.

Схема бактеріологічної діагностики гнійно-запальних процесів, спричинених умовно-патогенними мікроорганізмами (опортуністичних інфекцій)



Питання для самоконтролю.

- Задачі клінічної мікробіології.
- Яка роль нормальної мікрофлори людини в нормі і патології?
- Які причини розвитку дисбіозу? Принципи діагностики і лікування дисбіозу.
- Дати визначення і характеристику УПМ. Які фактори сприяють розвитку захворювань, спричинених УПМ?
- Які особливості етіології, клінічної картини і мікробіологічної діагностики опортуністичних інфекцій?
- Внутрішньо лікарняні інфекції. Біологічні властивості госпітальних ековарів бактерій. Які причини наростання і розповсюдження ятрогенних інфекцій в лікарняних закладах?
- Методи мікробіологічної діагностики опортуністичних інфекцій. Які критерії етіологічної ролі УПМ, виділених при бактеріологічній діагностиці гнійно-запальних і лікарняних інфекцій?

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.