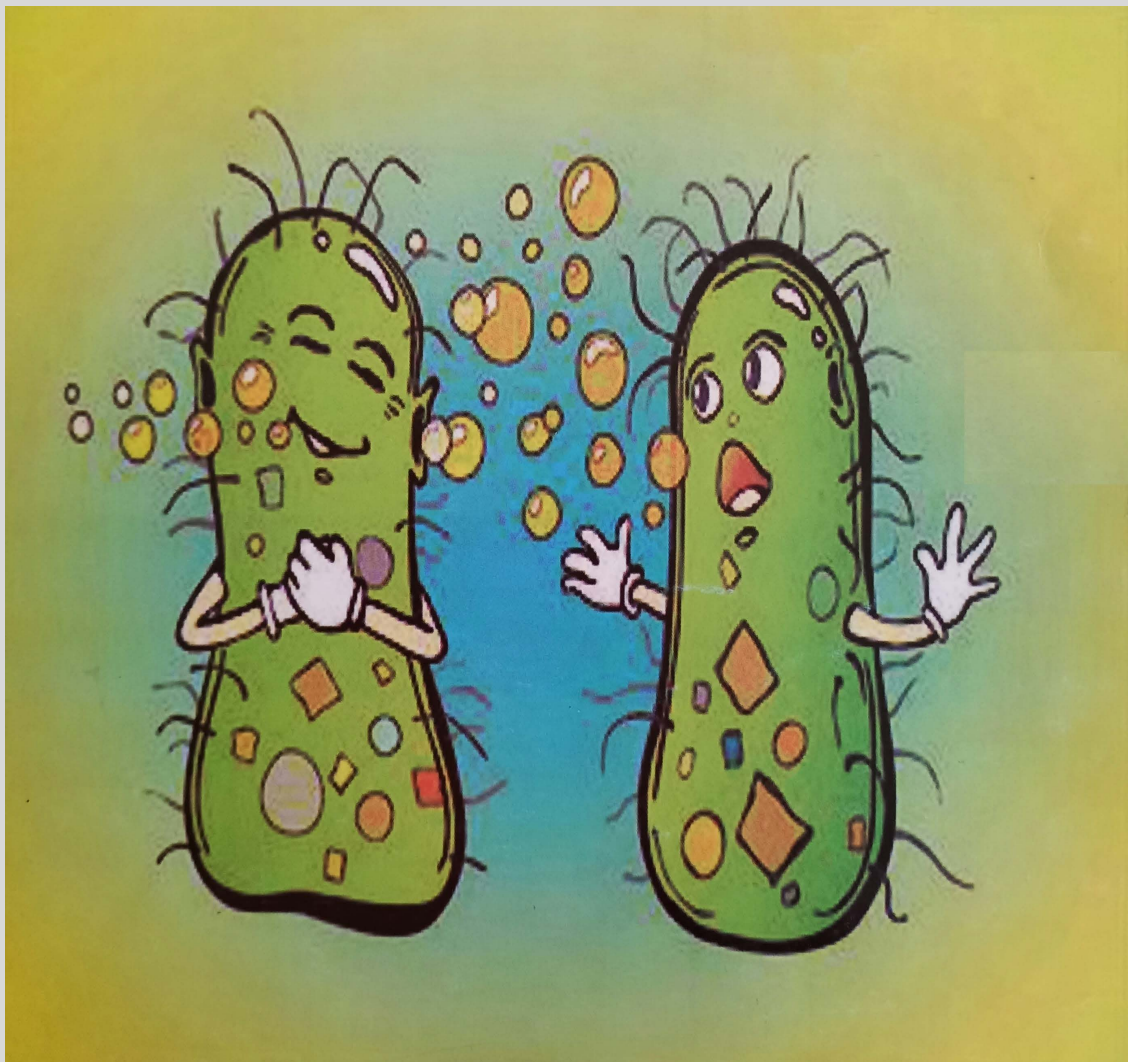


Міністерство освіти і науки України
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
Медичний факультет

Кафедра мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних
хвороб

Робочий конспект-зошит
для практичних занять з курсу
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія»

Методичні розробки для студентів 2 – 3 курсу медичного факультету



ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Медичний факультет

**Кафедра мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом
інфекційних хвороб**

**Коваль Г. М., Карбованець О. І., Пантьо В. В., Попович О. В.,
Лушнікова О. В., Бугина Л. М., Баті В. В., Голомб Л. А.,
Вакаров О.С.**

**Робочий конспект-зошит
для практичних занять з курсу
«Мікробіологія,
вірусологія та імунологія»**

СТУДЕНТА (КИ) КУРС

група _____

факультет _____

П.І.П. _____

Викладач _____

Ужгород - 2019

УДК 576.851

Робочий конспект-зошит для практичних занять з курсу «Мікробіологія, вірусологія та імунологія». Коваль Г.М., Карбованець О. І., Пантьо В. В., Попович О. В., Лушнікова О. В., Бугина Л. М., Баті В.В., Голомб Л.А., Вакаров О.С. Ужгород: Ужгородський національний університет. 2019.

Дані методичні вказівки складено у відповідності до вимог типової програми викладання мікробіології з основами вірусології для студентів медичних і стоматологічних спеціальностей, призначені для покращення організації і виконання самостійного вивчення даної теми, згідно вимог Болонського процесу. Наявність контрольних питань, тестів та ситуаційних задач дозволяє в значній мірі активізувати роботу студентів і звести до мінімуму можливість її механічного виконання, оскільки для відповідей на ці запитання необхідне попереднє опрацювання теоретичного матеріалу, а також сприяє більш глибокому осмисленню пройденого матеріалу. Також описано ряд методів, які не виконуються студентами на практичних заняттях, проте з якими їм необхідно ознайомитись для успішного засвоєння курсу загальної мікробіології з основами вірусології. Видання включає також перелік довідкової вітчизняної, періодичної та зарубіжної літератури, використання якої рекомендується студентам для підготовки до практичних занять по даній дисципліні.

Рецензент : д.м.н., проф. Болдіжар О.О.

д.б.н. , проф. Фекета В.П.

Друкується за рішенням Вченої ради медичного факультету УжНУ від 20.09.2019 р.
протокол № 1

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Організація бактеріологічної лабораторії. Види мікроскопії.

Мета: Ознайомитися з обладнанням та режимом роботи мікробіологічної лабораторії.
Вивчити правила роботи з імерсійною системою мікроскопа.

Основні питання теми:

1. Особливості режиму роботи в бактеріологічній лабораторії.
2. Мікроскоп з імерсійною системою, мікроскопія в темному полі зору, люмінісцентна, фазово-контрастна, аностральна, електронна, скануюча.
3. Правила роботи з імерсійною системою.

ПАМ'ЯТКА

Правила роботи в навчальній мікробіологічній лабораторії

Робота на кафедрі мікробіології та в мікробіологічній лабораторії потребує суворого дотримання спеціальних правил, оскільки дослідження проводяться з використанням культур патогенних мікроорганізмів і заразного матеріалу від хворих та експериментальних тварин.

Дотримання цих правил необхідно не тільки для особистої безпеки, але і для безпеки оточуючих нас людей. До роботи в бактеріологічній лабораторії допускаються особи, які обізнані з правилами роботи в ній.

1. Всі студенти повинні працювати в медичних халатах, з довгими рукавами, шапочках та змінному взутті.
2. Кожен студент повинен працювати лише на закріпленому за ним робочому місці.
3. Забороняється заходити у навчальні лабораторії в головних уборах та верхньому одязі, класти на столи портфелі та сумки.
4. У приміщенні мікробіологічної лабораторії категорично забороняється курити, вживати їжу та напої, зберігати продукти харчування.
5. На робочому столі повинні знаходитися тільки предмети, необхідні для проведення бактеріологічних досліджень: спиртівка, пастерівські та градуйовані піпетки, пінцети, бактеріологічні петлі, шпателі, предметні та накривні скельця, пробірки, штативи, чашки Петрі, мікроскоп.
6. Переливати рідини, які містять патогенні мікроорганізми, необхідно над посудиною з дезінфекційним розчином. При набиранні таких рідин у піпетки потрібно користуватися гумовими балонами або грушами.
7. При випадковому потраплянні інфекційного матеріалу на руки, стіл, підлогу та інші поверхні треба негайно повідомити про це викладача і в його присутності провести дезінфекцію заражених ділянок, потім обробити руки дезрозчином і ретельно їх вимити.
8. Оскільки деякі мікроорганізми, особливо спори грибів, є алергенами, не допускається їх розпилення, тому не можна залишати відкритими чашки Петрі, пробірки, колби з культурами мікроорганізмів.

- 9 У навчальній лабораторії не дозволяються зайві ходіння, різні рухи, непотрібні розмови. Завжди оберігати від втрат і виносу з лабораторії заразного матеріалу, живих культур та інфікованих тварин.
- 10 Виконання і контроль за цими правилами покладається на завідувача лабораторії або лікаря-бактеріолога. Після закінчення роботи протерти імерсійний об'єктив мікроскопу, робочі столи дезінфікуються, проводиться вологе прибирання лабораторії з використанням дезінфікуючих розчинів, предмети, матеріали, інструменти, інфіковані під час виконання практичної роботи, збирають у бікси для знезараження та дезінфікують руки.

Правила дезінфекції робочого місця:

- зробіть з вати кульку діаметром близько 2 см;
- візьміть кульку пінцетом, змочіть її в дезінфекційному розчині;
- протріть цією кулькою поверхню стола;
- опустіть кульку в посуд з дезінфекційним розчином;
- витріть стіл вологою серветкою.

Правила дезінфекції рук:

- зробіть з вати кульку діаметром близько 2 см;
- візьміть кульку пінцетом, змочіть її в дезінфекційному розчині;
- протріть нею руки в такій послідовності: ліва рука – тильна сторона, долонна сторона, між пальцями, нігтьова пластинка, під нігтями; права рука – у такій же послідовності;
- опустіть кульку в посуд з дезінфекційним розчином;
- візьміть пінцетом другу кульку і все повторіть;
- вимийте руки водою з милом.

Ps! Пам'ятайте про те, що студенти несуть відповідальність за мікроскопи, якими користуються, інше лабораторне обладнання, чистоту робочого місця.

МЕТОДИ МІКРОСКОПІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Залежно від завдань, які стоять перед дослідником, використовується декілька типів мікроскопів. На сьогодні у мікробіології застосовують світлові, електронні та зондові мікроскопи.

Світлова мікроскопія Більшість мікробіологічних досліджень виконується із використанням світлових мікроскопів – приладів з певним розташуванням лінз, за допомогою яких зображення об'єкта збільшується і стає видимим. Розрізняють світлопольну, темнопольну, фазово-контрастну та люмінесцентну світлові мікроскопії. Всі вони працюють за однаковим принципом, оскільки для їх роботи використовується світло з певною довжиною хвилі, що проходить крізь лінзи і безпосередньо сприймається сітківкою ока людини. Світлопольна мікроскопія Будову світлового мікроскопа наведено на рис.1. Світловий мікроскоп має механічну (допоміжну) і оптичну (головну) частини. Оптична система складається з освітлювальної системи (штучний освітлювач або дзеркало, конденсор з діафрагмою, тримач світлофільтрів) і системи спостережень (окуляр та об'єктиви). Джерело штучного освітлення і конденсор з діафрагмою знаходяться під предметним столиком. Конденсор складається з 2-3 лінз. Рухаючись за допомогою гвинта догори або вниз, він скеровує промені світла на об'єкт. При розгляданні фарбованих препаратів отвір діафрагми збільшують, нефарбованих – зменшують. При користуванні штучним освітленням у тримач під конденсором вкладають світлофільтр. Окуляр вставлений у верхній отвір тубуса мікроскопа, на нижньому кінці якого закріплена насадка з об'єктивами.

Коефіцієнт збільшення мікроскопа визначається добутком збільшення окуляра на збільшення об'єктива. Робоче збільшення окулярів коливається в межах від 4х до 15х. Найголовніша частина мікроскопа – об'єктив – складається з системи лінз. Основна лінза об'єктива – передня (фронтальна), вона розміщена безпосередньо над досліджуваним об'єктом, від її фокусної віддалі залежить збільшення об'єктиву. Розрізняють сухі, або повітряні, і імерсійні (занурені) об'єктиви. При користуванні об'єктивами 8х, 20х, 40х між фронтальною лінзою і препаратом знаходиться шар повітря, в якому заломлюється і відхиляється частина променів.

Імерсійним називається об'єктив, при роботі з яким між фронтальною лінзою і препаратом міститься рідина з показником заломлення, близьким до показника заломлення скла (об'єктив 90х). Такою рідиною є кедрова олія (показник заломлення кедрової олії – 1,515, скла – 1,52). Крім кедрової олії можна використовувати інші імерсійні рідини: гліцерин і воду, показник заломлення яких складає відповідно 1,4 та 1,3. Лінза імерсійного об'єктива занурюється в масляну імерсію, яка підвищує освітленість поля зору і роздільну здатність мікроскопа. Роздільна здатність мікроскопа визначається найменшою відстанню між двома точками на препараті, які можна побачити окремо. Для того, щоб покращити роздільну здатність мікроскопа, необхідно освітлювати об'єкт більш короткими променями світла або збільшити показник заломлення середовища, яке межує з лінзою (наприклад, за допомогою нанесення імерсійної олії на препарат). Межа роздільної здатності світлового мікроскопа при освітленні об'єктива видимими променями спектра дорівнює 0,2 мкм, а людського ока – 200 мкм. У мікроскопах без електричних освітлювачів пристроєм для освітлення є рухоме дзеркало, яке збирає світло і скеровує його в конденсор для освітлення препарату. Дзеркало має дві сторони – увігнуту і плоску. Плоску сторону використовують при роботі з конденсором і незалежно від джерела світла, увігнуту – при роботі без конденсора з об'єктивами малих збільшень. Крім світлопольної існують інші типи світлової мікроскопії.

Темнопольна. Використовується конденсор темного поля із затемненим центром. Об'єкт освітлюється лише променями, що падають на нього під кутом. Дозволяє побачити лише зовнішні контури об'єкта та його рух. Об'єкт виглядає як світла точка на темному фоні. Для дослідження дуже дрібних та неконтрастних живих об'єктів.

Фазово-контрастна. Використовуються спеціальні конденсор, об'єктиви та допоміжні пристрої. Фази світлових хвиль перетворюються в різницю інтенсивності світла і деталі будови об'єкта стають видимими для ока. Для вивчення живих нефарбованих об'єктів, внутрішньо-клітинних структур.

Люмінесцентна (ультрафіолетова) Має ртутно-кварцеве джерело світла, яке випромінює УФ-промені, системи кварцевих лінз та світлофільтрів (для захисту очей від УФ). Деякі структури клітин, опромінені УФ, світяться, випромінюючи промені з іншою довжиною хвилі. Клітини можна обробляти додатково флюорохромами. Має більшу роздільну здатність, ніж інші типи світлової мікроскопії, високу чіткість зображення. Дозволяє відрізнити живі клітини від мертвих за характером світіння. Для живих та фіксованих клітин. Дозволяє проводити кількісні дослідження.

Електронна мікроскопія. В електронній мікроскопії замість світлових променів ($\lambda=550$ нм), використовують пучок електронів, довжина хвилі яких дорівнює 0,04 нм, що приблизно у 10000 разів менше, ніж у світла. Крім того, в електронній мікроскопії зображення виводиться на екран, тому чутливість рецепторів зорового нерва в сітківці ока не обмежує сприйняття об'єкта. Саме через це роздільна здатність і збільшення електронного мікроскопа значно вищі, ніж у світлового. Використання електронного мікроскопа у мікробіології в основному пов'язано з дослідженнями як внутрішніх, так і поверхневих структур.

Типи електронної мікроскопії:

Трансмисійний (просвічуючий) Пучок електронів проходить у вакуумі від джерела електронів (вольфрамова граната) до екрану, пронизуючи об'єкт. Дозволяє розрізнити внутрішні компоненти клітини, що мають різну щільність.

Скануючий (растровий) Пучок електронів, зібраний у точку, описує поверхню об'єкта, попередньо вкритого напиленням у вигляді шару важкого металу. Пучок вибиває електрони з напилення, які і ресструються на екрані. Дозволяє побачити лише поверхневі структури клітини.

Зондова мікроскопія. Найсучаснішими мікроскопічними методами є методи зондової мікроскопії. Розрізняють скануючу тунельну зондову мікроскопію та атомно-силовою. Для візуалізації поверхні клітин, дослідження їх пружності та інших характеристик найбільш перспективною є атомно-силовою мікроскопія. Вона має ряд переваг над усіма іншими. Насамперед, це висока роздільна здатність, що перевищує електронно-мікроскопічну, і на кристалічних зразках дає можливість отримати зображення окремих атомів; можливість дослідження нативних клітин без будь-якої обробки (напилення, контрастування); можливість проведення дослідження у рідині. Для одержання зображення використовують мініатюрну голку із надтвердого матеріалу (зонд), яка, злегка дотикаючись, пересувається по поверхні досліджуваного зразка. Голка знаходиться на пружній мікропластинці, що закріплена одним кінцем. Згинання вільного кінця пластинки (відносно голки) обумовлена силою взаємодії голка-зразок і визначається оптичним методом за відхиленням відбитого лазерного променя. Переміщення голки забезпечується спеціальним маніпулятором. Результати аналізуються комп'ютером, на моніторі якого виникає зображення об'єкта. Існують різні режими вимірювань, які дають можливість чітко встановити рельєф поверхневих структур бактерій, їх розміри та ін.

Правила роботи з імерсійною системою мікроскопа

1. Підняти конденсор Аббе до рівня предметного столика, повністю відкрити діафрагму.

2. Користуючись об'єктивом 8, з допомогою плоского дзеркала встановити максимальне освітлення поля зору.

3. На предметний столик помістити забарвлений препарат-мазок, нанести на нього кедрову олію і закріпити клемами.

4. Повертаючи револьвер, встановити над препаратом імерсійний об'єктив 90; під контролем зору опустити його до занурення в краплю кедрової олії.

5. Дивлячись в окуляр лівим оком (не закриваючи правого), спочатку макрогвинтом знайти контури зображення, а потім мікрогвинтом добитись максимальної чіткості, вивчити і замалювати препарат.

6. Після закінчення роботи підняти тубус, зняти предметне скло, обережно витерти серветкою імерсійний об'єктив від кедрової олії, повернути його в бік, опустити тубус.

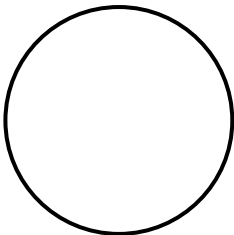
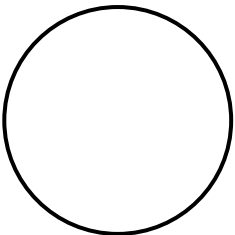
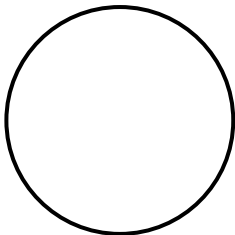
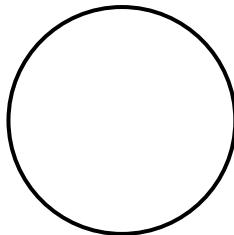
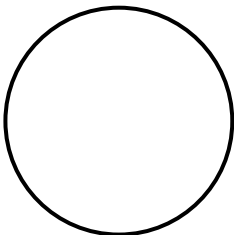
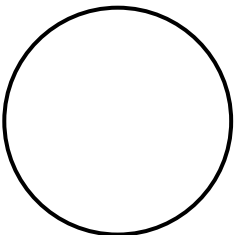
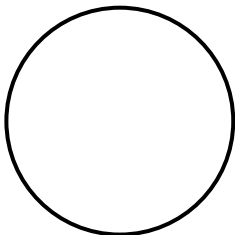
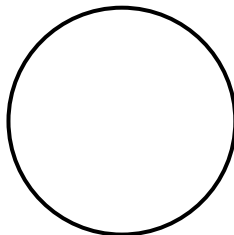
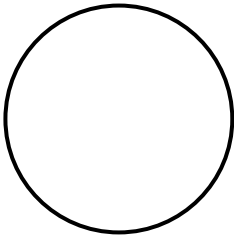
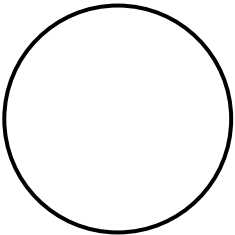
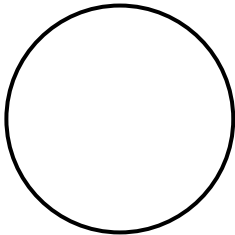
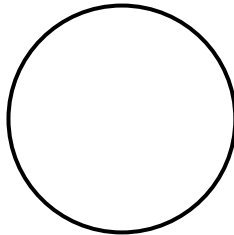
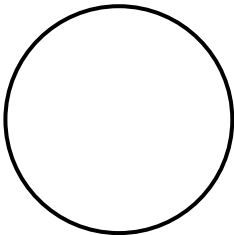
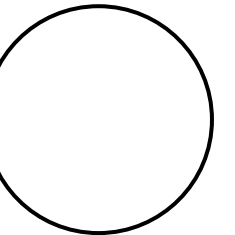
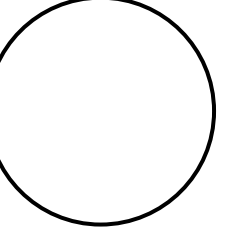
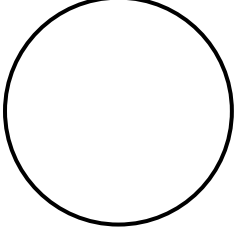
Практична робота

1. Ознайомитися з режимом роботи мікробіологічної лабораторії.

2. Розглянути під мікроскопом і замалювати в альбом препарати-мазки основних форм бактерій:

- кулясті (мікрококи, диплококи, стрептококи, тетракоки, стафілококи, сарцини)
- паличковидні (монобактерії, монобацили, диплобактерії, стрептобактерії, стрептобацили),
- спіралевидні (вібріони, спірили, спірохети).

ЗАМАЛЮВАТИ:

 Мікрококи	 Диплококи	 Стрептококи	 Стафілококи
 Тетракоки	 Сарцини	 Монобактерії	 Диплобактерії
 Стрептобактерії	 Монобацили	 Стрептобацили	 Вібріони
 Спірили	 Спірохети (трепонеми)	 Спірохети (борелії)	 Спірохети (лептоспіри)

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Тема : Історія мікробіології як науки.

Загальна характеристика основних систематичних груп мікроорганізмів - бактерій, спірохет, актиноміцетів, рикетсій, хламідій, мікоплазм, грибів, найпростіших та вірусів.

1. Морфологічні особливості та ультраструктура спірохет:

2. Морфологічні особливості та ультраструктура рикетсій і хламідій:
3. Морфологічні особливості мікоплазм і їх роль в патології людини.
4. Морфологічні особливості грибів. Захворювання, які вони викликають у людини.
5. Морфологія найпростіших. Патогенні представники.
6. Загальна характеристика вірусів, віроїдів, вірусоїдів, плазмід.

Систематика мікроорганізмів- основні систематичні групи

До мікроорганізмів відносять:

Прокаріоти- безядерні мікроорганізми

- 1) бактерії – мікроорганізми, розміри яких знаходяться в межах від 0,15 до 40,0 мкм;
- 2) рикетсії – мікроорганізми, які займають проміжне положення між бактеріями та вірусами, розмір їх 0,3–0,4 мкм;
- 3) хламідії, мікроорганізми, які займають проміжне положення між бактеріями та вірусами
- 4) спірохети – мікроорганізми, які займають проміжне положення між бактеріями та найпростішими, їх розмір 7–500 x 1,5 мкм;
- 5) мікоплазми, мікроорганізми, які займають проміжне положення між бактеріями та грибами

Еукаріоти – мають ядро

- 1) найпростіші – одноклітинні мікроорганізми тваринного походження;
- 2) гриби – мікроорганізми рослинного походження.

Внутрішньо-клітинні паразити -

- 3) віруси, віроїди, вірусоїди, плазміни, пріони – це особливі інфекційні агенти, які відносяться до найбільш простих форм життя. Вони не мають клітинної будови, розміри їх 10 – 45 нм;
- 4) Рикетсії.
- 5) Хламідії

Рикетсії – облигатні внутрішньоклітинні паразити деяких членистоногих: вошей, бліх, кліщів. Більшість видів – плеоморфні: паличкоподібні, коковидні, бацилярні, міцелярні форми з типовою клітинною стінкою. Рикетсії – грамнегативні організми, розмножуються поділом тільки в живих клітинах хазяїна. У клітинах рикетсій виявлено структурні елементи, типові для бактеріальних клітин: цитоплазму, нуклеоїд, цитоплазматичну мембрану, рибосоми, а в клітинній стінці – елементи пептидоглікану.

Рикетсії можна культивувати на спеціальних середовищах, які містять живі тканини, подібних до курячих ембріонів або культури тканин. Рикетсії мають певну активність енергетичних і біосинтетичних процесів. У них є цитохромна система і вони запасують енергію, яка виділяється в процесі дихання у вигляді АТФ. За розмірами рикетсії займають проміжне місце між бактеріями і великими вірусами. Серед рикетсій-паразитів небагато патогенних, які спричиняють захворювання (рикетсіози) тварин і людини. Їх було відкрито у 1909 р. американським ученим Г.Т. Рікетсом.

Хламідії. До них відносять одну родину (*Chlamydiaceae*), представниками якої є кокоподібні облигатні внутрішньоклітинні паразити тварин і людини з характерним циклом розвитку. В цитоплазмі клітин хазяїна маленьке елементарне тільце хламідії перетворюється у велике ініціальне тільце, яке ділиться дробленням. Ці тільця містять компактно розташований ядерний матеріал і рибосоми, зверху вони оточені ригідною клітинною оболонкою. Хламідії – грамнегативні паразити з обмеженим енергетичним метаболізмом. Вони не можуть синтезувати високо енергетичні сполуки типу АТФ, а тому їх ще називають "енергетичними паразитами". Хламідії зумовлюють у людини ряд захворювань, наприклад, запалення дихальних шляхів, трахоми (збудником її є *Chlamidia trachomatis*).

Спірохетами називають угруповання одноклітинних прокаріотичних мікроорганізмів. Клітина їх має звивистий вигляд, в довжину досягає від 5 до 500 мкм, рух гвинтоподібний за рахунок наявності еластичної клітинної мембрани. Розмножуються поділом поперек, для них

характерна наявність оксальної нитки – опірною елементу клітини. Певний перелік ознак відрізняє спірохети від інших прокаріотичних організмів: це одноклітинні організми, не утворюють капсул, спор, пігментів.

Одні види спірохет здатні до сапрофітного існування, інші – до паразитичного: в порожнинах тіла або крові. Гіганти серед спірохет відносяться до родини *Spirochaetaceae* (довжина клітини 30–500 мкм) та об'єднані в роди *Spirochaeta* та *Cristispira*.

Родина *Treponemataceae* включає менші форми (4–16 мкм), серед яких роди *Treponema* та *Borrelia* ростуть в анаеробних умовах, а *Leptospira* – в аеробних. *Spirochaeta plicatilis* регулярно зустрічається в солених та прісних водоймищах, в калюжах та мулі. *Cristispira* заселяє шлунково–кишковий тракт прісноводних та морських моллюсків.

Treponema pallidum є збудником сифілісу. *Treponema pertunae* належить до сапрофітних форм, широко розповсюджена в водоймищах, де відбуваються процеси гниття. Спірохети, які заселяють рубці жуйних тварин, здійснюють процеси бродіння глюкози до молочної, оцтової, янтарної кислоти з утворенням CO₂ та молекулярного водню.

До родини *Borrelia* відносяться анаеробні спірохети, які паразитують на членистоногих і є збудниками хвороб людей та тварин (зворотній тиф). До родини *Leptospira* належать найменші представники аеробних спірохет (0,1– 0,2 мкм в ширину та 4,0–6,0 мкм в довжину). Патогенні лептоспіри можуть бути збудниками хвороби свиней та свинопасів, лептоспірозу, хвороби Вейля. Вони потрапляють всередину організму з водою або їжею, проникають у кров, нирки або печінку та викликають порушення функцій цих органів. Спірохети заселяють прісну воду, їх виділяють також з водопровідної, ставкової та болотної води.

Мікоплазма (*Mycoplasma*) — рід дуже маленьких бактерій, що **не мають клітинної стінки**. Належать до Firmicutes, представники якого мають багато відмінностей від решти бактерій. Мікоплазми можуть бути паразитами або сапрофітами. Декілька видів — патогени людини, зокрема *M. pneumoniae*, який є одним з можливих збудників пневмонії та інших захворювань дихальних шляхів, і *M. genitalium*, яка, як вважається, викликає запальні хвороби статевих органів. Вони стійкі до антибіотиків, які спрямовані на порушення синтезу клітинної стінки, подібно до пеніциліну.

Сімейство Mycoplasmataceae представлено двома родами, що мають значення в патології тварин: ***Mycoplasma* (включає 76 видів) і *Ureaplasma* (включає 2 види)**. Для деяких патогенних видів доведена первинна роль в етіології хвороб великої та дрібної рогатої худоби (контагіозна плевропневмонія великої рогатої худоби, інфекційна плевропневмонія кіз, інфекційна агалактія овець і кіз), свиней (ензоотична пневмонія), коней, собак, кішок, лабораторних тварин, приматів, птахів (респіраторний мікоплазмоз птахів, інфекційний синусит індиків) і диких ссавців.

Належність мікроорганізмів до мікоплазм визначається такими ознаками: відсутність клітинної стінки і наявність тришарової плазматичної мембрани; резистентність до пеніциліну; відсутність попередників клітинної стінки; морфологія колоній і клітин (більшість мікроорганізмів зростає колоніями, форма яких нагадує яєчно- глазунью, часто центр вростає в агар; при мікроскопії спостерігається поліморфізм клітин);

Оскільки мікоплазми не мають клітинної стінки, вони ростуть повільно, тому для їх виділення, культивування і підтримки необхідні спеціальні живильні середовища і особливі умови. Патогенні штами для реплікації потребують сироватці крові ссавців або її компонентах, екстракті серцевого м'яза, пептонном, дріжджовому екстракті. За типом дихання мікроорганізми сімейства *Mycoplasmataceae* - аероби.

Патогенна дія мікоплазм на організм людини визначається здатністю цих мікроорганізмів прикріплюватися до клітин господаря. У цьому процесі беруть участь глікопротеїди мікоплазм, а також спеціальні органели, виявлені у деяких представників видів (*M. gallisepticum*, *M. pulmonis*, *M. alvi*). У поширенні цих мікробів в організмі важливу роль відіграють їх активні рухи. Мікоплазми, долаючи тканинний бар'єр, проникають в кровоносне русло. У цьому процесі важливу роль відіграє капсула, гліколіпіди якої токсичні

для макроорганізму: вони знижують фагоцитоз і блокують іммунокомпетентну систему. Деякі види мікоплазм (*M. gallisepticum*, *M. neurolyticum*) утворюють токсини, що збільшують проникність ендотелію капілярів, що обумовлює набряклість різних тканин організму. У результаті розвивається хронічна інфекція, порушується імунологічна реактивність, змінюється мембрана клітин макроорганізму.

Найпростіші. Найпростіші – одноклітинні еукаріоти, які мають більш вищу організацію, ніж бактерії. Вони не мають твердої клітинної оболонки, мембрана їх вміщує, на відміну від бактерій, хітин, не мають целюлози (на відміну від рослин). Найпростіші складаються з цитоплазми, диференційованого ядра, еластичної клітинної мембрани. Розмножуються простим поділом, статевим шляхом, а також складним способом – чередуванням статевого та нестатевого поколінь (плазмодій малярії). Розміри найпростіших коливаються в досить широких межах в залежності від їх виду та фізіологічного стану. Більшість з них в сотні разів перевищують за розмірами бактерії. Тип Protozoa вміщує більш 30000 видів, які поділяють на 4 класи: джгутикові, саркодові, споровики та війчасті. Саркодові (*Sarcodina*) – переміщуються в просторі за допомогою псевдоподій. Представники – *Entamoeba histolytica*, *Ent. coli*. Джгутикові (*Mastigophora*) – переміщуються за допомогою джгутиків. *Trepanosoma rhodesiense* – збудник сонної хвороби, *Trichomonas vaginalis* – сапрофіт, представник мікрофлори нижніх відділів статевої системи. *Tr. hominis* зустрічається, головним чином, у роті (наявність хворих зубів), *Tr. intestinalis* заселяє товстий відділ кишечника людини. *Leishmania donovani*, *L. tropica* – збудники вісцерального лейшманіозу. Споровики (*Sporozoa*) – переміщуються за допомогою псевдоподій лише на ранніх стадіях розвитку, чоловіча та жіноча гамети мають джгутики. Представники: *Plasmodium vivax*, *Pl. malariae* – збудники малярії. Війчасті (*Ciliata*) – переміщуються за допомогою війок. Представник – *Paramecium caudatum*.

Мікроскопічні гриби відносять до еукаріотів. З рослинами їх пов'язує ланцюг загальних ознак: наявність клітинної оболонки та вакуоль, заповнена клітинним соком, добре помітний під мікроскопом рух протоплазми, відсутність здатності до пересування. Однак у грибів немає фотосинтетичних пігментів – вони гетеротрофи, ростуть в аеробних умовах та здобувають енергію за рахунок окислення органічних сполук. Вегетативне тіло грибів – талом – складається з довгих ниток (гіф), які досить добре розгалужені як в поживному середовищі, так і на його поверхні. Угрупування гіф грибового талому називають міцелієм. Міцелій, який утворює щільні переплетення, називають плектенхімою (наприклад, м'ясисті плодові тіла шапкових грибів). Гіфи грибів ростуть верхівкою – апікальне, у більшості грибів будь-яка частина міцелію здатна до росту. Для виникнення нового талому досить маленької ділянки міцелію. Безстатеве розмноження відбувається за допомогою спор, а також шляхом фрагментації та брунькування поверхневих гіф. На їх кінцях утворюються нестатеві спори, які мають назву – конідії, якщо ж вони утворюються в спорангіях, то говорять про спорангієспори. У нижчих грибів спорангієспори іноді здатні до руху, такі спори називають зооспорами. Для дріжджів характерним видом нестатевого розмноження є брунькування. При цьому на материнській клітині утворюється потовщення або брунька, в яку переміщується одне ядро, після чого брунька відшнуровується. Розмноження може також проходити шляхом руйнування гіф на окремі клітини – оїдії або артроспори (*Endomyces lactis*). У деяких грибів ці клітини оточені товстою оболонкою, в такому випадку їх називають хламідоспорами. У окремих представників дріжджів (*Schizosaccharomyces*) розмноження, як і у бактерій, відбувається шляхом поділу клітини навпіл. Статеве розмноження у грибів, як і у інших еукаріотів, відбувається шляхом злиття двох ядер. Таке злиття ядер серед різних грибів проходить через певні проміжки часу після первинного контакту між батьківськими клітинами. У нижчих грибів стадія статевого розмноження починається з утворення статевих клітин або гамет. Якщо жіноча та чоловіча гамети морфологічно схожі, то їх називають ізогаметами. Чоловічі статеві органи це антеридії, жіночі – оогонії. У гомоталомних грибів статеві клітини утворюються на одному і тому ж вегетативному тілі, у гетероталомних грибів таломи різні, тобто несуть або чоловічі,

або лише жіночі статеві органи. У гомоталомних грибів спостерігається явище самозапліднення – автогамія.

Цвільові гриби – це еукаріотичні мікроорганізми, які утворюють характерний пухнастий або оксамитовий наліт (цвіль) різного кольору на рослинах, продуктах харчування, насінні, рослинних залишках у певних умовах (температура, волога). Поверхневий цвільовий наліт складається, в основному, з спороносних гіф гриба, а його вегетативне тіло – міцелій – пронизує субстрат та викликає його руйнування.

В систематичному відношенні цвільові гриби належать до різних класів: фікоміцети – (*Phycomycetes*), аскоміцети (*Ascomycetes*), ооміцети (*Oomycetes*), базидіоміцети (*Basidiomycetes*) та незавершені гриби (*Fungi imperfecti*).

Фікоміцети – це одноклітинні нижчі гриби, які мають добре розвинутий міцелій, що складається з багатоядерних клітин або гіф, позбавлених перетинки (неклітинний міцелій). Нестатеве розмноження відбувається, головним чином, спорангіоспорами, іноді конідіями. Статеве розмноження відбувається завдяки утворенню ооспор або зигоспор. На основі форм статевого розмноження клас фікоміцети поділяється на зигота ооміцети. Представники: *Mucor* та *Rhizopus*.

Мукор надзвичайно широко розповсюджений у природі, особливо в ґрунті. Представники – *Mucor racemosus*, *M. javanicum* викликають спиртове бродіння. *M. ingricum* – збудник гнилі цукрового буряку, *M. mucedo* викликає генералізовані захворювання у людини.

Rhizopus nigricans відрізняється від *Mucor* спорангієносцями, які розташовані жмутами на міцелії. Від них відходять ризоїди, які проникають у субстрат та сприяють розповсюдженню гриба в поживному середовищі.

До сумчастих (*Ascomycetes*) грибів відносять *Penicillium* або кистевик та *Aspergillus*, або лійкова цвіль. Ці гриби мають багатоклітинний міцелій, нестатеве розмноження відбувається за рахунок утворення конідій, які розташовані на конідієносцях поверхневого міцелію. Статеве розмноження проходить за рахунок утворення сумчастих плодових тіл на гіфах субстратного міцелію. У роду *Aspergillus* конідієносці нерозгалужені, одноклітинні з булавовидним потовщенням на кінці. На поверхні цього потовщення розташовані стеригми, від яких відщеплюються конідії.

У *Penicillium notatum* конідієносці багатоклітинні, розгалужені. Кінцеві клітини відшнуровують ланцюжки конідій, які розташовані у вигляді пензлика (кисті). Представники цих цвілевих грибів мають важливе практичне значення, наприклад, для отримання лимонної кислоти із цукру (*Aspergillus niger*), для отримання антибіотичного препарату пеніциліну (*Penicillium chrisogenum*) тощо. Вони досить широко розповсюджені у природі та відіграють значну роль у мінералізації органічних сполук.

Fungi imperfecti – незавершені гриби, як і аскоміцети, мають багатоклітинний міцелій, але на відміну від попередніх, не мають статевого розмноження. Їх розмноження відбувається нестатевим шляхом за допомогою конідій або вегетативно – ділянками гіф. *Alternaria tenuis* найбільш розповсюджений представник – зустрічається в ґрунті, на рослинних рештках та на живих рослинах, викликає захворювання сходів, молодих рослин та насіння. Міцелій та конідії темного (чорного) кольору. *Trichoderma lignorum* характеризується утворенням округлих, темно-зеленого кольору конідій, що розвиваються на булавовидних стеригмах. Вони є продуцентами антибіотичних речовин, наприклад, триходерміну, який застосовується в боротьбі з хворобами рослин.

Загальна характеристика вірусів

До 1891 року вважали, що бактерії – ланка на межі живого та неживого. Однак у 1892 році Д.І. Івановський довів, що широко розповсюджену хворобу тютюну можна перенести на здорові рослини при зараженні їх соком хворих. Так було відкрито віруси – інфекційні агенти, що проходять через бактеріальні фільтри, а отже, є значно менші від них за розмірами. Термін "вірус" в перекладі з латинської мови означає "жива" отрута.

Всі віруси характеризуються інфекційністю (потенційною патогенністю) та облігатним паразитизмом. Віруси об'єднані в царство *Viridae*. Від інших мікроорганізмів вони відрізняються такими ознаками:

- 1) відсутністю клітинної оболонки;
- 2) нездатністю до росту та поділу;
- 3) відсутністю клітинної будови;
- 4) відсутністю власних метаболічних систем;
- 5) наявністю нуклеїнових кислот тільки одного типу – РНК або ДНК;
- 6) нездатністю до розмноження поза клітиною організму–господаря;

7) для розмноження їм необхідна лише нуклеїнова кислота. У людини та тварин віруси викликають такі захворювання, як віспа, сказ, кір, паротит, поліомієліт, грип, ящур, синдром набутого імунodefіциту (СНІД) тощо.

Вірусні частинки – віріони – різноманітні за формою та розмірами. Розміри їх коливаються в широких межах – від 17–20 нм до 300 нм. Електронне – мікроскопічне дослідження показало, що вони можуть бути паличкоподібними, нитчастими, сферичними, кубічними, булавовидними. Білкова оболонка, що оточує нуклеїнову кислоту, має назву капсид, який складається з капсомерів. РНК вірусів одноланцюгова, але несе спадкову інформацію. У вірусів, що викликають пухлини рослин та у групі реовірусів людини і тварин, виявлено дволанцюгову РНК. У складі деяких вірусів знайдено ферменти реплікації вірусних нуклеїнових кислот: ДНК–залежна РНК–полімераза, РНК–залежна ДНК–полімераза (зворотна транскриптаза), РНК–залежна РНК–полімераза (транскриптаза).

Процес взаємодії вірусу з клітиною складається з кількох етапів:

- 1) проникнення вірусу в клітину;
- 2) внутріклітинний розвиток вірусу;
- 3) вихід вірусу з клітини.

Віруси людини та тварин передаються від хворого організму до здорового різними шляхами, в тому числі, через комах. "Воротами інфекції" патогенних вірусів можуть бути носоглотка, травний шлях, шкіра тощо.

Проникнення вірусів у клітини викликає в організмі певні імунні процеси, подібні тим, що виникають при бактеріальних інфекціях. Неспецифічним фактором противірусного імунітету є інтерферон. Це білок клітинного походження, який гальмує репродукцію вірусів завдяки пригніченню процесів синтезу вірусних РНК та вірус специфічних білків. Дія інтерферону спрямована на збереження клітинного гомеостазу.

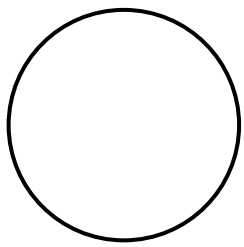
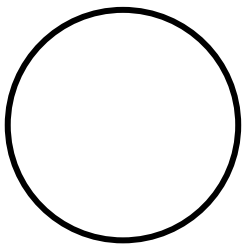
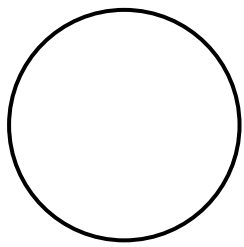
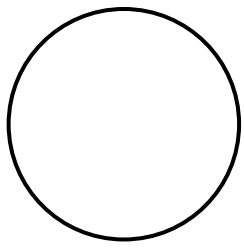
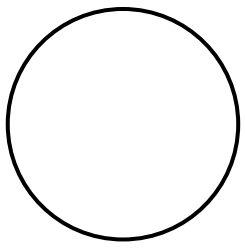
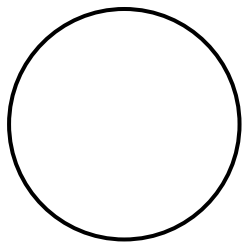
Сучасна класифікація вірусів людини і хребетних тварин охоплює понад 4/5 відомих нині вірусів. Їх розподілено на 17 родин; із них 6 – ДНК–геномні віруси і 11 – РНК–геномні віруси. Деякі з цих родин мають у своєму складі також віруси безхребетних і рослин, які виділено в окремі підродини або роди (табл. 1).

Порівняльна характеристика еукаріотів і прокаріотів

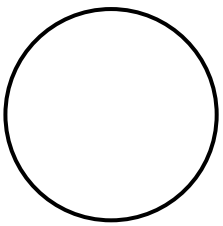
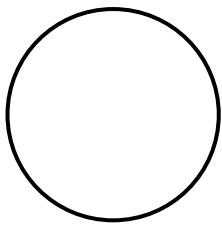
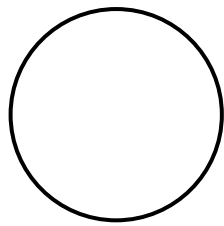
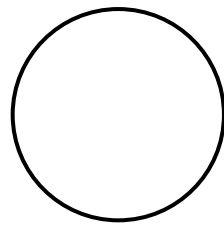
Еукаріоти	Прокаріоти

Практична робота.

1. Замалювати демонстраційні препарати трепонем, борелій, лептоспір, актиноміцетів, рикетсій, хламідій, мікоплазм.

 трепонем	 борелії	 лептоспіри
 актиноміцети	 рикетсії	 хламідії

2. Замалювати демонстраційні препарати різноманітних грибів

 кандіда	 мукор	 пеніцил	 аспергіл
--	--	---	---

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Будова бактеріальної клітини. Основні методи дослідження бактерій. Складні та прості методи фарбування.

Основні питання теми:

1. Основні методи дослідження бактерій. Складні та прості методи фарбування.
2. Структура мікробної клітини:

3. Спороутворення у бактерій:
4. Органи руху у бактерій:
5. Фібриї (війки) бактерій. Види. Значенн

Етапи фарбування препарату за методом Грама.

1. Генціанвіалет – 2 хв.
2. Розчин Люголя –1 хв.
3. Спирт-1 хв.
4. Промити водою.
5. Фуксин-1 хв.
6. Промити водою і висушити

Грампозитивні бактерії фарбуються за методом Грама в фіолетовий колір тому, що -

Грамнегативні бактерії фарбуються за методом Грама в червоний колір тому, що

Приклади грампозитивних бактерій: _____

Приклади грамнегативних бактерій: _____

Структура бактерійної клітини (замалювати)

Будова клітинної стінки бактерій (замалювати)

Грампозитивних бактерій	Грамнегативних бактерій

Дати відповідь:

Протопласти це _____ бактерії, у яких _____, і вони виникають при дії на бактерії _____

Сфероласти це _____ бактерії, у яких _____, і вони виникають при дії на бактерії _____

Як правило, бактерії утворюють капсули тільки в _____

Капсули захищають мікроорганізми від _____

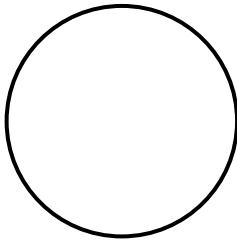
Приклади бактерій, що утворюють капсули: _____

Стадії спороутворення:

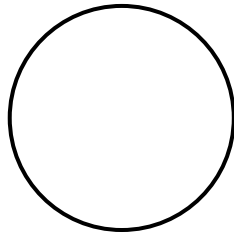
Спори утворюють наступні мікроорганізми:

Різні види розміщення спор (замалювати)

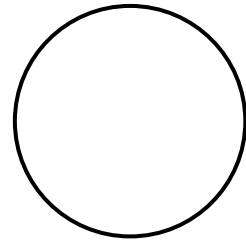
Термінальне



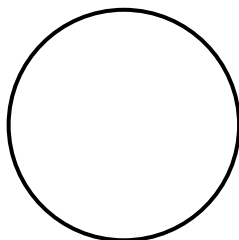
Субтермінальне



Центральне

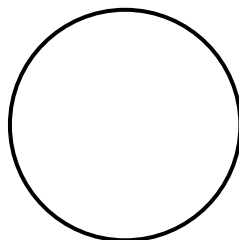


Поділ бактерій за розміщенням джгутиків (замалювати)



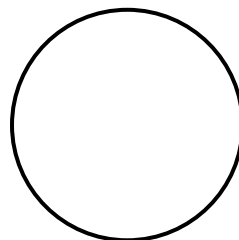
Монотрихи

()



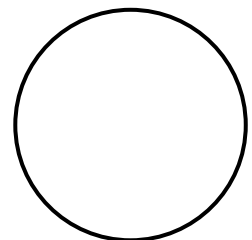
Перитрихи

()



Амфітрихи

()



Лофотрихи

()

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Вплив факторів зовнішнього середовища на мікроорганізми. Методи стерилізації і дезінфекції. Асептика та антисептика. Методи культивування бактерій . Поживні середовища і їх класифікація.

Основні питання теми:

1. Вплив фізичних факторів на мікроорганізми: Поняття температурного оптимуму, максимуму та мінімуму для бактерій.
2. Дія хімічних речовин на мікроорганізми.
3. Методи знезаражування біологічних об'єктів. Стерилізація, пастеризація, дезінфекція, асептика, антисептика.
4. Основні групи антисептиків: а – галогенові препарати; б – окисники; в – солі важких металів; г – похідні нітрофурану; д – група барвників; ж – спирти та феноли;
5. з – альдегіди; – кислоти та їх похідні; поверхнево-активні речовини.
6. Методи стерилізації. Стерилізація парою під тиском, текучою парою, сухим жаром, іонізуюче та ультрафіолетове опромінення. Стерилізація фільтруванням.
7. Контролі стерилізації в автоклаві.
8. Особливості стерилізації медичного інструментарію.
9. Навести класифікацію поживних середовищ і дати їх коротку характеристику.
10. Методи виділення чистої культури аеробів та анаеробів.

За температурним оптимумом всі мікроорганізми поділяються на:

Мікроорганізми	Т е м п е р а т у р н и й		
	оптимум	максимум	мінімум
Термофіли	50-60 °С	75 °С	45 °С
Мезофіли	30-37 °С	43-45 °С	15-20 °С
Психрофіли	10-15 °С	25-30 °С	0-5 °С

Стерилізація – повне знищення вегетативних і спорових форм усіх мікроорганізмів на певних предметах, матеріалах, живильних середовищах.

Дезінфекція – сукупність фізичних, хімічних і механічних способів знищення вегетативних і спорових форм патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів.

Асептика – це комплекс запобіжних заходів у клінічній, мікробіологічній та виробничій роботі, спрямованих на попередження занесення в зону діяльності сторонніх мікроорганізмів з тіла людини, повітря, інструментів або інших об'єктів зовнішнього середовища та розвитку небажаних процесів. До заходів асептики належать: механічне очищення; хімічне очищення; стерилізація; дезінфекція; антисептика; герметизація; ізоляція. *Стерилізація* – це сукупність методів повного видалення усіх життєвих форм мікроорганізмів, включаючи спори, з об'єктів навколишнього середовища. *Дезінфекція* – це сукупність методів для пригнічення життєдіяльності, зменшення кількості або знищення певних груп мікроорганізмів на об'єктах оточуючого середовища. *Методи стерилізації та дезінфекції:* 1) Фізичні методи (дія високих температур: стерилізація сухим жаром; стерилізація вологою парою під тиском; стерилізація текучою парою; тиндалізація; прожарювання; кип'ятіння; пастеризація); дія іонізуючого і неіонізуючого випромінювання

(ультрафіолетове випромінювання; гама- і рентгенівське випромінювання; лазерне випромінювання); дія ультразвуку); 2) механічні методи (фільтрування рідин і повітря); 3) хімічні методи (стерилізація за допомогою препаратів стерил'янтів; стерилізація газами; обробка об'єктів оточуючого середовища розчинами дезінфектантів або гербіцидів).

Антисептика – комплекс лікувально-профілактичних заходів, які направлені на знешкодження мікроорганізмів, здатних викликати інфекційний процес на цілій або ушкодженій шкірі, слизових оболонках, в ранах. *Антисептики* – це хімічні препарати протимікробної дії, які використовуються для терапевтичної та профілактичної антисептики шкіри, слизових оболонок, ран, порожнин.

Антисептичні матеріали – матеріали медичного та іншого призначення, оброблені стійкими антисептиками (пластир, пов'язки, вата, серветки, тампони, шовний матеріал тощо).

Профілактична антисептика – це сукупність методів, направлених на зменшення кількості або повне видалення мікроорганізмів на здоровій шкірі, слизових оболонках і свіжих ранах з метою попередження розвитку інфекційних ускладнень (знищення мікроорганізмів на шкірі рук медперсоналу, операційному полі).

Терапевтична антисептика - це сукупність методів, направлених на зменшення кількості або повне видалення мікроорганізмів в патологічних утвореннях шкіри, слизових оболонок з метою лікування місцевих інфекційних уражень і попередження розвитку генералізації інфекції

Види антисептики: 1) механічні методи (первинна хірургічна обробка; вакуумна обробка рани; дренажування ран); 2) фізичні методи (обробка ран ультразвуком); 3) хімічні методи (використання розчинів синтетичних сполук з протимікробними властивостями). *Основні механізми дії хімічних антисептиків на живі клітини:* денатуруючий – денатурація білків; окислювальний – окислення ферментів; мембраноатакуючий – підвищення проникності або руйнування оболонок клітин; антиметаболітний.

У медичному кабінеті повинен бути належний запас дезінфікуючих речовин, журнал їх обліку, на посудині з готовим розчином повинна стояти дата й час приготування. Особи, що готують дезрозчини, повинні бути проінструктовані щодо технології приготування. У приміщенні повинні бути засоби негайної допомоги при випадковому отруєнні деззасобом

Класифікація поживних середовищ

Прості	Складні
<p>Рідкі: ПВ, МПБ Щільні: МПЖ, МПА</p>	<p>Спеціальні: цукров. МПА, МПБ, сиров. МПА, кров. МПА, асцит. МПА Збагачення, накопичення: селенітовий МПБ, с-ща Мюллера, Кауффмана, Кітта-Тароцці Елективні: Ру, 1% лужна ПВ Диференціально-діагностичні: 1) для визначення цукролітичних властивостей (с-ща Гіса, Ендо, Левіна, Плоскірева) 2) для визначення протеолітичних властивостей (згорнута сироватка, МПЖ, кусочки м'язів, білка курячого яйця) 3) для визначення пептолітичних властивостей (МПБ, ПВ) 4) для визначення гемолітичних властивостей (кров. МПА) 5) для визначення редуруючих властивостей (середовища з різними барвниками)</p>

Запишіть основні вимоги до поживних середовищ:

ОСНОВНІ ПОЖИВНІ СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ АНАЕРОБІВ

Цукровий агар, цукровий кров'яний агар Цейслера, середовище Кітт-Тароцці, середовище Вільсона-Блера, тіогліколеве середовище.

Практична робота

1. Ознайомитись з будовою автоклаву, сухожарової печі Пастера, термостата, стерилізатора, фільтра Зейтца, свічками Шамберлана, Беркефельда.

2. Ознайомитись з контролями стерилізації.

Хімічні: сірка (119 °С), бензойна кислота (120-122 °С), бензонафтол (123 °С), сечовина (132 °С).

Біологічні: спорові культури мікроорганізмів.

3. Підготувати до стерилізації лабораторний посуд.

Пробірки, флакони, колби закривають ватними пробками. Пробірки загортають у папір по 20-30 шт., а чашки Петрі по 4-5 шт. Пастерівські й градуйовані піпетки з широкого кінця затикають ватою, обгортають папером або вміщують у картонні чи металеві пенали.

4. Ознайомитись з набором основних компонентів для приготування простих поживних середовищ (м'ясна вода, пептон, хлорид натрію, агар-агар).

5. Визначити бактерицидну дію хімічних сполук на стандартний тест-штам *S.aureus* в якісному суспензійному тесті з використанням батистових тест-об'єктів (експозиція 0,5, 1, 3 і 5 хвилин). Для вивчення ефективності бактерицидної дії хімічних сполук на золотистий стафілокок, фіксований на батистових тест-об'єктах, нам необхідно мати: 1) добову культуру *S. aureus*, з якої виготовляють завис у стерильному фізіологічному розчині; 2) стерильні батистові тест-об'єкти; 3) набір дезінфектантів в робочих концентраціях: декаметоксину (0,01% розчин), хлораміну (1% розчин), перекису водню (3% розчин), спирту етилового (70⁰ розчин), карболової кислоти (5% розчин), борної кислоти (2% розчин); 4) для контролю – ізотонічний стерильний розчин хлориду натрію.

Методика проведення дослідження:

- контамінація тест-об'єктів у завису золотистого стафілококу протягом 5 хвилин: стерильним пінцетом переносимо тест-об'єкти у завис стафілококу, витримуємо протягом 5 хв.

- знезараження контамінованих тест-об'єктів у різних розчинах дезінфектантів при різних експозиціях: контамінований тест-об'єкт стерильним пінцетом вносять у розчин певного дезінфектанту, витримують необхідний час (30 секунд або 1 хв., або 3 хв., або 5хв.). Для контролю контаміновані тест-об'єкти вносять також у стерильний фізіологічний розчин і залишають там на той же час, що і в розчинах дезінфектантів.

- для контролю ефективності знезараження золотистого стафілококу оброблені тест-об'єкти асептично переносять у пробірки із стерильним МПА, пробірки маркують периміщують в термостат на 24 години.

6. Визначити антистафілококову дію антимікробного перев'язувального матеріалу (демонстрація). Для визначення антистафілококової дії антимікробного матеріалу, отриманого шляхом просякнення перев'язувального матеріалу розчином декаметоксину, на чашку з МПА, засіяну культурою золотистого стафілококу, поміщають лоскути стерильного і антимікробного перев'язувального матеріалу. Чашку периміщують у термостат на одну добу. Через добу враховують результати: навколо лоскута антимікробного матеріалу утворюється зона відсутності росту за рахунок дифузії у агар антисептика. Така зона відсутня навколо стерильного перев'язувального матеріалу. Таким чином, при застосуванні антимікробних матеріалів у рані, крім дренажної, фіксуючої і бар'єрної функції, вони будуть мати місцеву антимікробну дію.

7. Визначити ефективність стерилізації шовного матеріалу у демонстраційному досліді. Для визначення ефективності стерилізації шматочки шовного матеріалу, знезаражені різними методами (кип'ятінням і автоклавуванням), поміщають на поверхню стерильного МПА. Чашку з посівом переміщують у термостат на 24-48 годин.

8. Ознайомитись з класифікацією основних групами антисептичних препаратів. Заповнити таблицю.

Група антисептиків	Механізм дії	Приклади препаратів
<i>Поверхнево-активні речовини</i>		
<i>Галоїди</i>		
<i>Окислювачі</i>		
<i>Альдегіди</i>		
<i>Феноли</i>		
<i>Кислоти і луги</i>		
<i>Похідні важких металів</i>		
<i>Барвники</i>		
<i>Спирти</i>		
<i>Гази</i>		

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

**Типи і механізм живлення бактерій. Дихання бактерій.
Методи виділення чистих культур.**

МЕТА: Ознайомитись з методами культивування мікроорганізмів і визначенню їх кількості у досліджуваному матеріалі. Ознайомитись з механізмами дихання бактерій і методами створення анаеробних умов.

Основні питання теми:

1. Назвати типи живлення бактерій і навести приклади.
2. Охарактеризувати основні механізми живлення
3. Ферменти бактерій, їх особливості.
4. Типи і механізми дихання бактерій.
5. Спосіб і механізм розмноження бактерій
6. Методи кількісного визначення бактерій у досліджуваному матеріалі.
7. Що таке колонія чи чиста культура? Характеристика бактерійних колоній.
8. Охарактеризувати культуральні властивості бактерій (R- і S- форми).
9. Назвати принципи і методи виділення чистих культур.
10. Охарактеризувати методи одержання чистих культур бактерій, що базуються на механічному принципі.
11. Охарактеризувати методи одержання чистих культур бактерій, враховуючи їх різні біологічні властивості.
12. Етапи виділення чистих культур аеробних мікроорганізмів.

Заповніть таблицю:

Типи живлення бактерій

Джерело живлення	Групи мікроорганізмів
1. Вуглець	
2. Азот	
3. Енергія	
4. Донори електронів	

Розшифруйте основні механізми живлення бактерій:

a - пасивна дифузія _____

б - полегшена дифузія _____

в - активний транспорт _____

г – транслокація хімічних груп _____

Поділ бактерій за типами дихання

Облігатні аероби (збудники туберкульозу, чуми, холери)

Облігатні анаероби (збудники правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції, бактеріїди, фузобактерії)

Факультативні анаероби (стафілококи, ешеріхії, сальмонели, шигели та інші)

Мікроаерофіли (молочнокислі, азотфіксуючі бактерії)

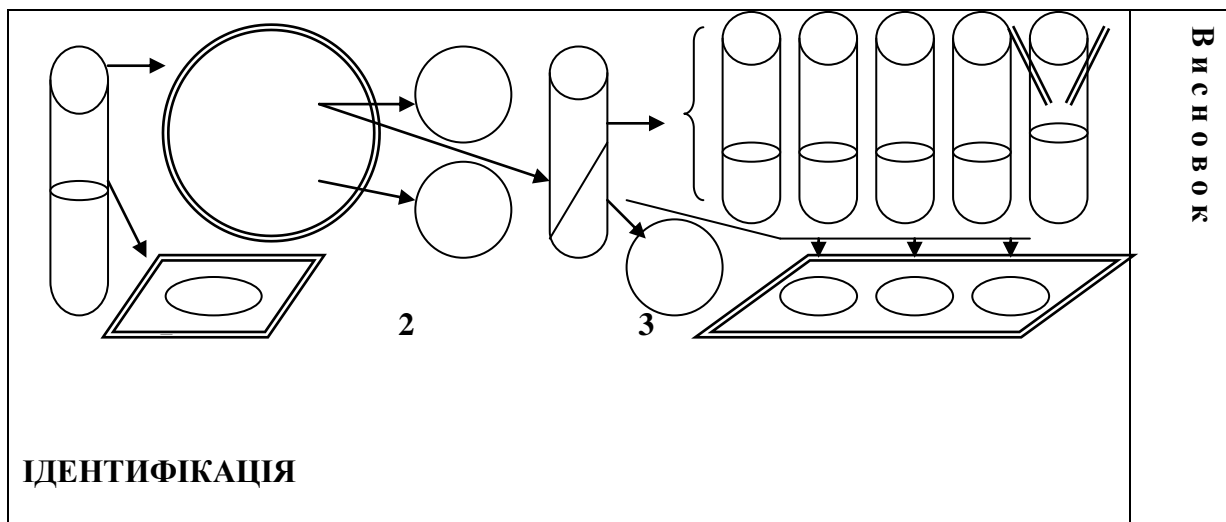
Капнеїчні (збудник бруцельозу бичачого типу).

Принципи і методи виділення чистих культур бактерій

Механічний принцип МЕТОДИ	Біологічний принцип МЕТОДИ
1. Фракційних розведень Л. Пастера 2. Пластинчатих розведень Р. Коха 3. Поверхневих розсівів Дригальського 4. Поверхневих штрихів	Приймають до уваги: а - тип дихання (метод Фортнера); б - рухливість (метод Шукевича); в - кислотостійкість; г - спороутворення; д - температурний оптимум;

Етапи виділення чистих культур аеробних мікроорганізмів:

- 1 - макро- і мікроскопічне вивчення досліджуваного матеріалу і посів на щільні поживні середовища для одержання окремих колоній;
- 2 - макро- і мікроскопічне вивчення колоній і пересів на скошений агар;
- 3 - перевірка культури на чистоту та її ідентифікація;
- 4 - висновок про виділену культуру.



Властивості клітин із S- і R-колоній

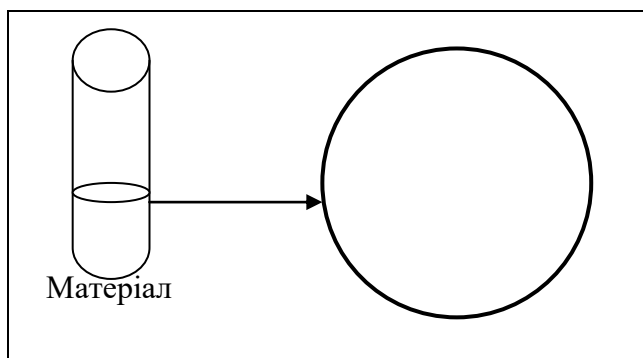
S - форми	R - форми
Колонії гладкі, рівні, опуклі	Колонії шорсткі, нерівні, плоскі
У рухливих видів завжди є джгутики	У рухливих видів джгутики можуть бути відсутні
У капсульних видів добре виражена капсула	Капсули відсутні
Біохімічно більш активні	Біохімічно менш активні
Чутливі до фагу	Менш чутливі до фагу

Фагоцитуються слабо Виражені токсигенні властивості Виділяються переважно в гострому періоді хвороби	Легко фагоцитуються Токсигенні властивості виражені слабо або відсутні Виділяються переважно при хронічних формах хвороби і носійстві
--	---

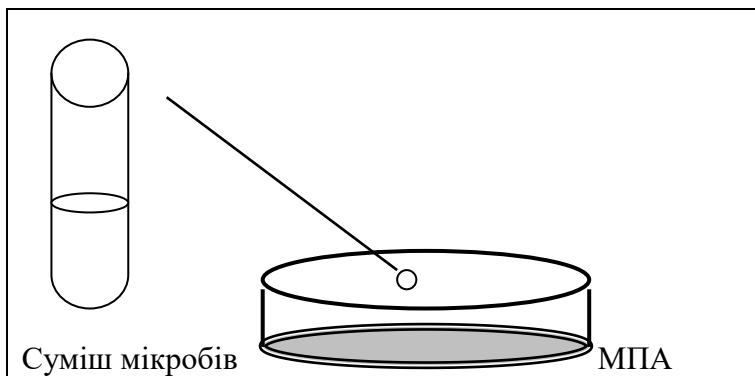
Практична робота

Виділення чистої культури аеробів

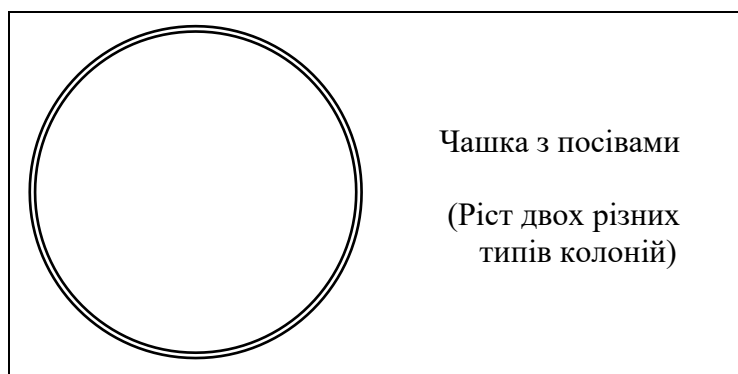
1. Пофарбувати за методом Грама мазки із патологічного матеріалу, розглянути під мікроскопом, замалювати.



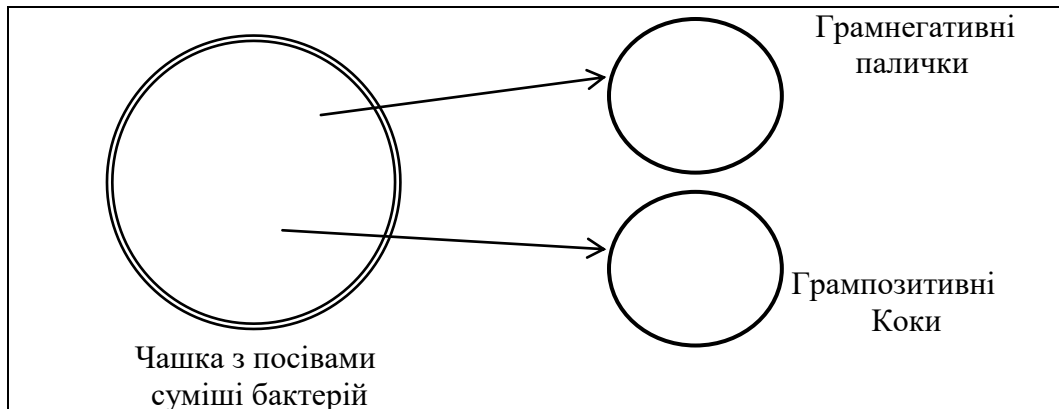
2. Засіяти досліджуваний матеріал на щільні поживні середовища (МПА) методом "штрихів".



Характеристика колоній

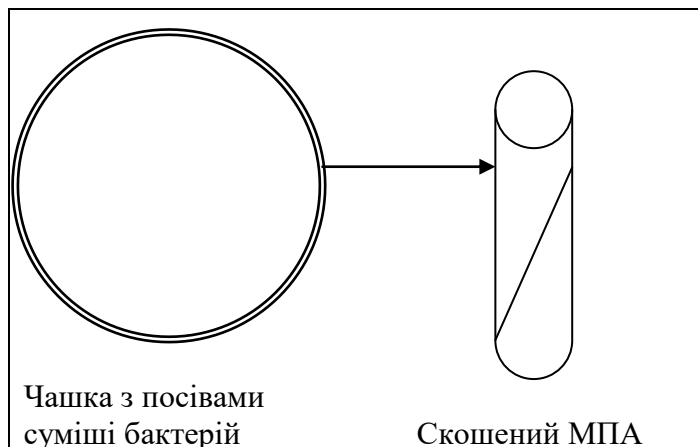


4. Приготувати і пофарбувати за Грамом мазки з різних типів колоній, замалювати в протоколі.



Другий етап виділення чистої культури аеробів

5. Посіяти ізольовану колонію грамнегативних паличок на скошений агар для накопичення чистої культури.



Морфологічна ідентифікація – визначення виду бактерій за їх морфологічними ознаками. Приймають до уваги форму і зовнішні ознаки бактерії (коки, палички, спірохети), наявність капсули, спори, джгутиків.

Культуральна ідентифікація – визначення виду бактерій за їх культуральними властивостями. Приймають до уваги характер росту бактерій на рідких і щільних поживних середовищах (характеристика колоній, ріст на рідкому середовищі).

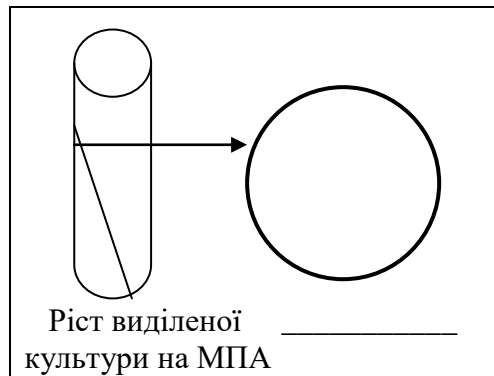
Біохімічна ідентифікація – визначення виду бактерій за їх біохімічними ознаками. Приймають до уваги цукролітичні, протеолітичні, пептолітичні, редуруючі, гемолітичні та інші ферментативні властивості бактерій.

Серологічна ідентифікація – визначення виду бактерій за їх антигенною будовою. Для цього використовують специфічні аглютинуючі антимікробні сироватки.

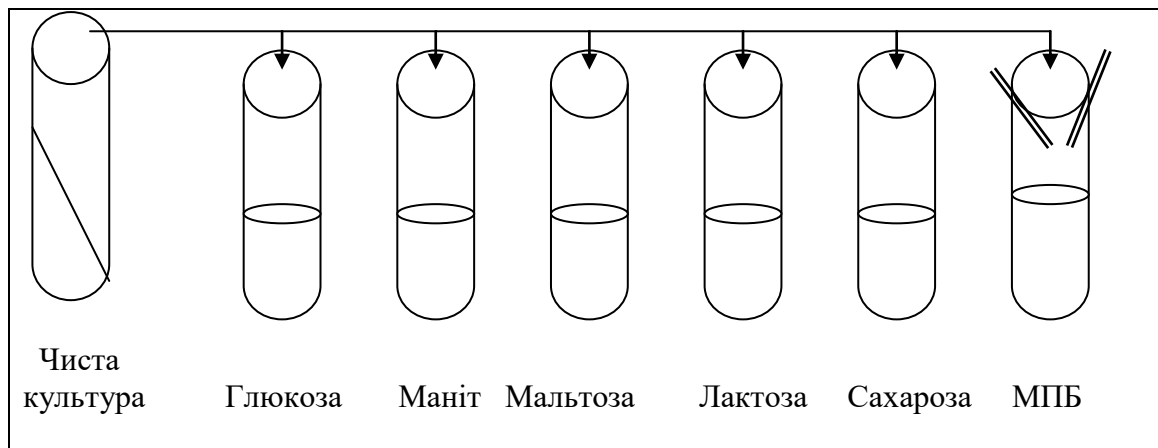
Біологічна ідентифікація – заражають лабораторних тварин (гвінейських свинки, щурів, мишей) чистою культурою бактерій і спостерігають за тими змінами, які вони викликають в організмі.

Третій етап виділення чистої культури аеробів

6. Перевірити чистоту культури, яка виросла на скошеному агарі, зробити мазок, зафарбувати за методом Грама. Замалювати в альбом.

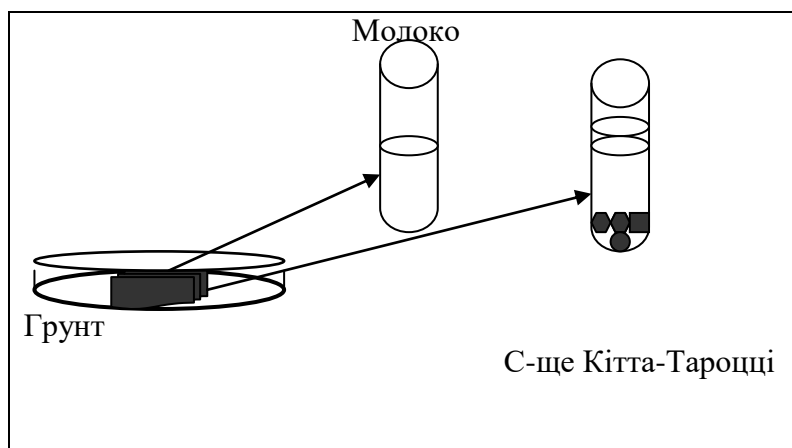


7. Пересіяти чисту культуру на строкатий ряд Гісса і МПБ для визначення цукролітичних і пептолітичних властивостей бактерій.

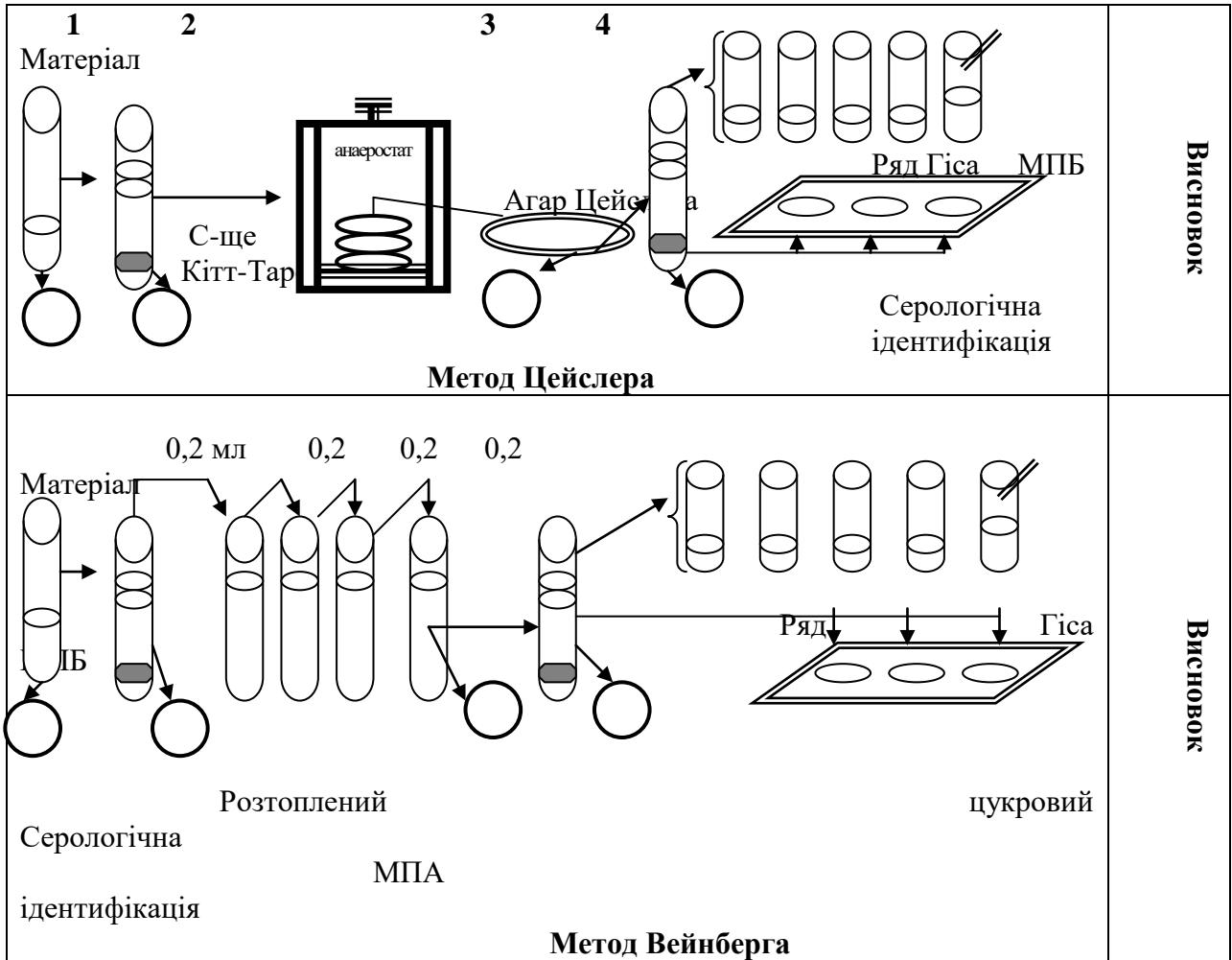


Перший етап виділення чистої культури анаеробів

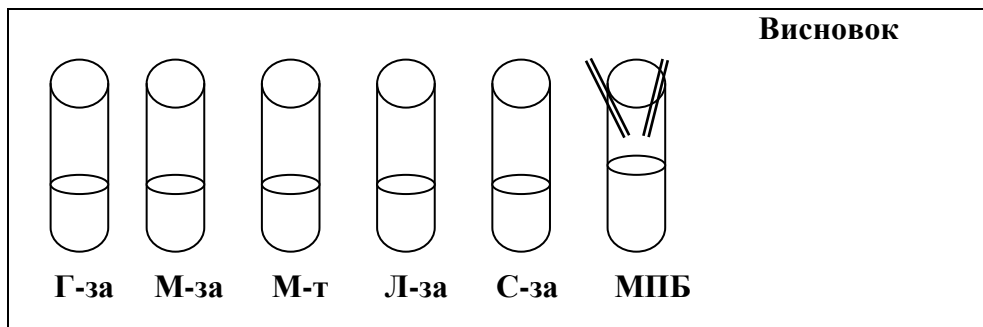
9. Посіяти ґрунт на молоко і середовище Кітта - Тароцці



Етапи і методи виділення чистих культур анаеробів



12. Облік посівів на строкатому ряді Гісса.



13. Зробити заключний висновок відносно виділеної чистої культури аеробних мікроорганізмів.

Підпис викладача _____

Дата

Заняття №

Мікрофлора повітря, води і ґрунту. Санітарно-показові мікроорганізми.

Основні питання теми:

1. Основні представники мікрофлори ґрунту, санітарно-показові види. Методи вивчення мікрофлори ґрунту.

2. Основні представники мікрофлори води та санітарно-показові види. Методи визначення мікробного числа, колі-титру води та нормативи держстандартів.

3. Основні представники мікрофлори повітря та санітарно-показові види. Суть седиментаційного та аспіраційного методів вивчення мікрофлори повітря.

Основні представники мікрофлори ґрунту:

Нітрифікуючі, денітрифікуючі, азотфіксуючі бактерії, сірко-, залізобактерії, гриби, найпростіші.

З виділеннями людей і тварин у ґрунт попадають і деякий час там зберігаються збудники правця, газової гангрені, ботулізму, сибірки, черевного тифу, дизентерії, холери, окремі віруси.

Санітарно-показові бактерії ґрунту: кишкова паличка, ентерокок-показники свіжого фекального забруднення, *Clostridium perfringens* – показники давнього фекального забруднення і термофільні мікроорганізми.

Колі індекс – кількість бактерій групи кишкової палички в 1 г ґрунту

ґрунт вважається **чистим**, якщо його **колі-індекс** не перевищує **1000**.

Мікрофлора води: *автохтонна* – актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони;

Алохтонна (заносна) при забрудненні водоймищ стічними водами – кишкові палички, ентерококи, клостридії, спірили, вібріони, ентеровіруси, ротавіруси.

Санітарно-показові бактерії води: кишкова паличка, ентерокок, *Clostridium perfringens* – показники фекального забруднення.

Мікробіологічні показники безпеки питної води

(Наказ МОЗ України від 23.12.1996 р.)

№	Показники	Одиниці виміру	Нормативи
1.	Число бактерій в 1 см ³ води (ЗМЧ)	КУО/ см ³	не більше 100
2.	Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм ³ води (індекс БГКП)	КУО/ дм ³	не більше 3
3.	Число патогенних бактерій в 1 дм ³ води	КУО/ дм ³	відсутність
4.	Число коліфагів в 1 дм ³ води	БУО/ дм ³	відсутність

Визначення ЗМЧ (загального мікробного числа)– по 1 мл води різних розведень засівають у розтоплений і охолоджений МПА на чашках Петрі.

Визначення БГКП (бактерій групи кишкової палички) проводять за методом мембранних фільтрів або за методом бродильних проб.

Основні представники мікрофлори повітря: актиноміцети, сарцини, мікрококи, бацили, гриби.

Патогенні мікроорганізми попадають в повітря від хворого і можуть тимчасово там знаходитись – збудники дифтерії, туберкульозу, коклюшу, скарлатини, менінгіту, ангіни, грипу, кору, аденовірусних інфекцій тощо.

Санітарно-показові мікроорганізми повітря: гемолітичні стрептококи і золотисті стафілококи.

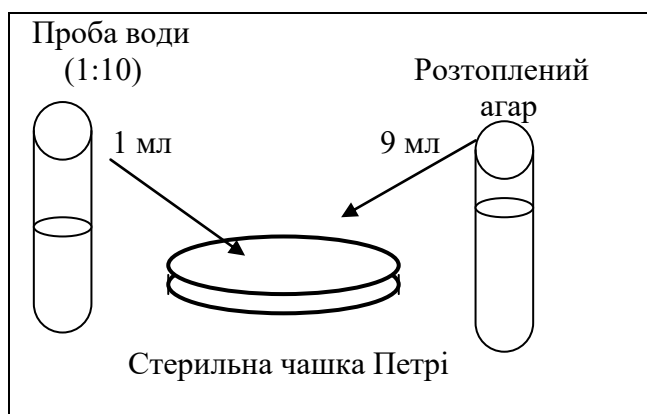
Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікробів в 1 м^3 і наявності санітарно-показових бактерій. З цією метою проби повітря відбирають **седиментаційним або аспіраційним методами.**

Написати: критерії оцінки мікробного забруднення повітря в приміщеннях лікарні

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Практична робота

1. Зробити посів 1 мл водопровідної води в розтоплений агар для визначення загального мікробного числа.



2. Визначити число бактерій в 1 м^3 повітря седиментаційним методом.

Кількість мікробних колоній, які вирости з посівів повітря коридору	Кількість мікробних колоній, які вирости з посівів повітря аудиторії	Кількість мікробних колоній, які вирости з посівів повітря вулиці

Підпис викладача _____

Дата

Заняття №

Мікробіоценоз тіла людини. Мікрофлора ротової порожнини та вікові зміни в її складі. Мікрофлора при патологічних процесах порожнини рота. Фузоспірохетоз. *Streptococcus mutans* та його роль в етіології карієсу. Принципи мікробіологічної діагностики.

МЕТА : Оволодіння методами досліджень мікрофлори тіла здорової людини та кількісної характеристики мікроорганізмів при дисбактеріозі. Вивчення основних представників мікрофлори ротової порожнини та порівняння мікрофлори ротової порожнини дорослих та дітей.

Основні питання теми:

1. Мікробіоценоз, біотоп, екологічна ніша. Поняття постійної (резидентної) і транзитornoї (тимчасової) мікрофлори людини.
2. Основні представники мікрофлори різних відділів тіла людини.
3. Методи вивчення мікрофлори людини.
4. Значення мікрофлори людини. Дисбактеріоз кишечника і способи його попередження.
5. Характеристика основних еубіотиків і їх практичне значення.
6. Значення мікрофлори ротової порожнини людини. Дисбактеріоз і способи його попередження.

МІКРОФЛОРА ТІЛА ЛЮДИНИ

1. Постійна (резидентна) – мікрофлора специфічна для даного біотопу (**автохтонна**).

2. Тимчасова – мікрофлора занесена з інших біотопів хазяїна (**алохтонна**), мікрофлора занесена з інших біотопів довкілля (**заносна**).

Важливою особливістю нормальної мікрофлори є її індивідуальність й анатомічна стабільність. Організм людини не вільний від мікроорганізмів. Мікроорганізми знаходяться на шкірі, слизових оболонках, які сполучаються із зовнішнім середовищем. Особливо багато мікроорганізмів в різних відділах шлунково-кишкового тракту. Дуже сприятливим середовищем для їх життєдіяльності є порожнина рота, а саме зубний наліт, залишки їжі між зубами, на слизовій зіву. Окремі види мікроорганізмів пристосувались до постійного існування в ротовій порожнині. До них належать крупні грам позитивні палички *V. maximus buccalis*, тонкі довгі *Leptotrix buccalis*, коки, молочнокислі бактерії, спірохети, дріжджоподібні гриби та інші. Найбільша кількість мікроорганізмів знаходиться в шлунково-кишковому тракті. Однак, в організмі здорової дитини відразу після народження мікроорганізмів немає. Мікроорганізми з'являються з першим криком, з першим годуванням.

У випорожненнях дитини, яка знаходиться на природному годуванні, виявляються *Bifidobacterium bifidum* грампозитивні прямі, або розгалужені палички, *Lactobacillus acidophilus* – грампозитивні палички. При штучному годуванні мікрофлора випорожнень набуває змін: збільшується кількість грам негативної флори. Основними мікроорганізмами мікрофлори кишківника здорової дорослої людини є: *E.coli*, *B.sporogenes*, *B.putrificus*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus*, *Proteus vulgaris*, *Candida*, *Bacteroides*, плісняві гриби та інші. У перші дві доби після народження піхва немовлят залишається стерильною, а далі заселяється мікрофлорою, яка зберігається до періоду статевого дозрівання. У жінок основними представниками мікрофлори піхви є молочнокислі бактерії. Завдяки їм створюється високе значення рН – 4,7, що не дає змоги розмножуватись іншим мікроорганізмам. Залежно від вмісту лейкоцитів і бактерій розрізняють чотири ступені чистоти піхвового вмісту. I та II ступені чистоти визначають у здорових жінок і характеризуються кислою реакцією (рН = 4,0 – 5,5), наявністю молочнокислих бактерій і невеликої кількості лейкоцитів та грампозитивних диплококів. III та IV ступені чистоти вмісту піхви виявляють у жінок із запальними процесами статевої системи.

Мікрофлора шкіри: коринебактерії, пропіонібактерії, стафілококи, мікрококи, сарцини, актиноміцети, плісневі й недосконалі гриби, мікобактерії, стрептококи, кандіди.

Мікрофлора ротової порожнини: різні види стрептококів, пептококів, вейлонел, бактероїдів, лактобактерій, лептотриксів, фузобактерій, актиноміцетів, спірохет та інші.

Мікрофлора шлунка і кишок: шлунок – спорові та лактобактерії, дріжджі, сарцини; кишечник – біфідо- і лактобактерії (верхні відділи), анаероби – біфідобактерії, клостридії, бактероїди, лактобактерії, вейлонели (нижні відділи).

Мікрофлора дихальних шляхів: дифтероїди, стафілококи, нейсерії, стрептококи, пептококи.

Мікрофлора кон'юктиви: коринебактерії, стафілококи, стрептококи, нейсерії, гемофільні бактерії.

Мікрофлора сечо-статевих органів: зовнішня частина уретри – пептококи, бактероїди, коринебактерії, кишкові палички, мікобактерії смегми.

Ступені чистоти вагінального секрету

I-II ступені	III-IV ступені
Клітини епітелію, багато молочно-кислих бактерій (палички Додерлайна), реакція секрету кисла, в ньому багато глікогену, мало білка.	Палички Додерлайна відсутні або їх дуже мало, багато стрепто- і стафілококів, лейкоцитів, реакція секрету слабокисла або слаболужна, в ньому мало глікогену і багато білка

Значення нормальної мікрофлори людини

1. Колонізаційна резистентність
2. Антагоністична роль
3. Імуностимулююча
4. Участь у всіх видах обміну речовин
5. Синтез вітамінів, гормонів, ферментів
6. Травна роль

Дисбактеріоз кишечника – кількісні та якісні порушення екологічного балансу між мікробними популяціями в складі нормальної мікрофлори.

Бланк бактеріологічного дослідження фекалій (приклад)

№	Мікрофлора	Норма	У хворого
1	Патогенні ентеробактерії	0	
2	Біфідобактерії	$10^8-10^{10}/г$	
3	Молочнокислі бактерії	$10^8-10^{10}/г$	
4	Кишкові палички	$10^6-4 \times 10^8/г$	
5	Гемолітичні кишкові палички	0	
6	Стафілококи	до $10^4/г$	
7	Гемолітичні стафілококи	0	
8	Умовно-патогенні ентеробактерії	до $10^5/г$	
9	Гриби роду <i>Candida</i>	до $10^4/г$	

Зубна бляшка і її формування.

Формування бляшки настає через 24 години, а через кілька днів, (якщо не очищувати поверхню зубів), вона набуває стабільного характеру з участю усіх елементів мікробіоценозу. У її формуванні беруть участь полісахариди слини, муцин, полісахариди, що синтезуються мікроорганізмами - глюкани та фруктани.

Вони становлять органічну основу - матрикс - зубної бляшки. Матрикс сприяє адгезії інших видів мікроорганізмів. Мікробну основу матриксу складають актиноміцети та лептотріхії. На початку формування бляшки, крім актиноміцетів і лептотріхіїв, до її складу входять, переважно, різні види стрептококів, лактобактерій, дифтероїдів. При відновному потенціалі середовища у бляшках швидко розмножуються анаеробні мікроорганізми - вейлонели, бактероїди, тобто склад мікрофлори з аеробного змінюється на анаеробний. У сформованій зубній бляшці (при недостатньому гігієнічному догляді за зубами) у її складі можна виявити практично усі види мікрофлори порожнини рота - спірохети, найпростіші, гриби.

Актиноміцети. До складу зубної бляшки, як один з основних елементів матриксу, входить *A. odontoliticum*.

A. actinomycetocomitans входить до складу мікрофлори ясенних борозенок, є одним з основних факторів, що спричиняють захворювання парадонту. *A. viscosus* бере участь у розвитку зубного каменя, в експерименті на гнобіотах виявився карієсогенним. *A. bovis* є збудником важкого захворювання тканин порожнини рота та щелепно-лицевої ділянки - актиномікозу.

Спірохети. Постійними мікроорганізмами порожнини рота є *T. denticola* (рід Трепонема), виявляється біля шийки зуба, *T. macrodentinum* і *T. ogale* містяться у ясенних кишнях. Борелії представлені видом *B. buccalis*, який часто зустрічається в ясенних кишнях разом з фузобактеріями.

Мікоплазми. У вмісті ясенних борозенок часто зустрічаються *M. orale*, *M. salivarium*.

Гриби. Одноклітинні гриби роду *Candida* у складі мікрофлори порожнини рота виявляються постійно. Проте, патогенні види спричиняють кандидоз порожнини рота, який часто є основним проявом дисбактеріозу або розвивається при імунodefіцитних станах.

Найпростіші. В порожнині рота виявляють амеби - *Entamoeba gingivalis*, трихомонади - *Trichomonas elongata*. їх виявляють у зубному камені, гнійному вмісті пародонтальних кишень.

Мікроорганізми ротової порожнини утворюють стійкі міжвидові групи, що мають клініко-патогенетичне значення:

- **хромогени (пігментоутворюючі види), переважно анаероби**-*Porphyromonas*, *Prevotella* спричиняють утворення пігментних плям на зубах;

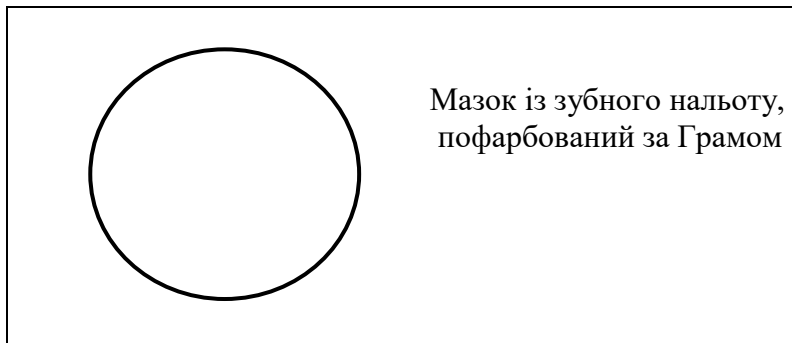
- **Ацетопродуценти та ацидофільні мікроорганізми** продукують кислоти і виживають при низьких значеннях рН, спричиняють демінералізацію зубів (стрептококи, лактобактерії, лептотріхії);

- **Протеолітичні мікроорганізми**, що виділяють ферменти, які розкладають органічні структури зуба та діють на тканини пародонту (бактероїди, актиноміцети, фузоспірохетозний комплекс).

При дисбактеріозі першого-другого ступеня (компенсованому) склад нормальної мікрофлори не порушується, але з'являються патогенні види бактерій. **При дисбактеріозі третього ступеня (субкомпенсованому)** виділяється один вид патогенної мікрофлори на фоні різкого зменшення або повної відсутності представників нормальної мікрофлори. **При дисбактеріозі четвертого ступеня** виявляються асоціації патогенних мікроорганізмів - грибів з протеєм, патогенними стафілококами і стрептококами.

Практична робота

1. Приготувати мазок із зубного нальоту і пофарбувати по Граму



2. **Ознайомитись з препаратами еубіотиками (пробіотиками), які застосовують для корекції дисбіозів.**

- 1 – аеробакт;
- 2 – біофлорин;
- 3 - біфідіформ, біфіцид, лобелін, лінекс, ліобіфідус, прімадофілус, йогурт;
- 4 - біфідумбактерин, біфідумбактерин-форте, біфіліз;
- 5 - карболеур, карбофажіл, парентерол, ентерол;
- 6 - колібактерин, біофлор, мутафлор, коліфлорал;
- 7 - лактобактерин, ацилак, аципол, нормофлор, лактінекс, вагілак, гастрофарм;
- 8 - споробактерин, бактиспорин, біоспорин, бактисубтіл, флонівін, нутрілон;
- 9 - хілак, хілак-форте, нормазе, дуфалак, фродо, порталак, інулін.

Підпис викладача _____

Дата

Заняття №

Основи хіміотерапії. Хіміотерапевтичні препарати. Визначення чутливості бактерій до хіміотерапевтичних препаратів Мікробний антагонізм. Антибіотики. Визначення чутливості бактерій до антибіотиків. Основні антимікробні препарати в медичній практиці.

Основні питання теми:

1. Поняття про хіміотерапевтичні препарати. Хіміотерапевтичний індекс.
2. Основні групи хіміотерапевтичних препаратів.
3. Механізми дії основних хіміопрепаратів.
4. Побічна дія хіміопрепаратів, ускладнення хіміотерапії.
5. Методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків.
6. Формування резистентності мікробів до хіміотерапевтичних препаратів
7. Явище мікробного антагонізму
8. Антибіотики. Класифікації антибіотиків за спектром дії, походженням, механізмом дії, хімічною будовою. Одиниці вимірювання активності антибіотиків.
9. Методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків (серійних розведедень, стандартних дисків, прискорені).

10. Визначення концентрації антибіотиків в біологічних рідинах та тканинах.
11. Основні принципи раціональної хіміотерапії та антибіотикотерапії в стоматології.
12. Побічна дія антибіотиків, ускладнення хіміотерапії.
13. Формування резистентності мікробів до антибіотиків
14. Особливості застосування антибактеріальних засобів при інфекціях ротової порожнини.

Хіміотерапія – наука, що займається пошуком, вивченням і застосуванням у медицині лікарських препаратів, що діють на збудників інфекційних захворювань, а також пухлинні клітини.

Хіміотерапевтичні препарати – лікарські засоби, які безпосередньо або після відповідних перетворень в організмі людини чинять згубну дію на збудників інфекційних захворювань.

Хіміотерапевтичний індекс

$$ХТІ = \frac{DT_{max} (toleranta)}{DC_{min} (curabilis)} > 3$$

Визначається в експерименті на тваринах при доклінічному вивченні ХТП. В основі дії ХТП лежить принцип фізіологічної імітації молекул сполук мікроорганізмів, які приймають участь в метаболізмі клітини. ХТП діють лише на вегетативні форми мікроорганізмів. ХТП повинен: проникнути в клітину, зв'язатись з відповідною мішенню і модифікувати її, зберегти свою структуру або утворити активний метаболіт, включитись в метаболізм клітини, але не відтворити його.

Класифікація хіміотерапевтичних препаратів: 1) за мішенню (антибактеріальні, антивірусні, антигрибкові, антипротозойні, антигельмінтні, антипухлинні); 2) за ефектом дії (мікробостатичні, мікробоцидні).

Спектр дії ХТП – це область мікробостатичної або мікробоцидної дії ХТП, що визначається переліком видів мікроорганізмів, на які він діє. За спектром дії розрізняють ХТП широкого спектру, вузького спектру, специфічної дії (антивірусні, антитуберкульозні, антигрибкові, антипухлинні, антипротозойні, антигельмінтні).

Методи вивчення чутливості бактерій до ХТП: 1) метод серійних стандартних розведень; 2) дифузійні методи (метод стандартних дисків, метод лунок, Е-тест (еліпс-тест)); 3) сучасні методи (автоматичні системи врахування результатів за оптичною густиною розчинів -ALAMAR-тест, Microscan-тест).

Класифікація ХТП за хімічною будовою: 1. Похідні важких металів; 2. Сульфаніламідні; 3. Діамінопіримідини; 4. Нітрофурані; 5. Імідазоли та триазоли. 6. Хіноксоліни та 4-, 8-оксіхіноліни. 7. Похідні ізоникотинової кислоти. 8. Похідні 9. Фторхінолони. 10. Антибіотики.

Механізми дії ХТП: 1) утворюють нерозчинні альбумінати важких металів, блокують ферменти (похідні важких металів); 2) блокують синтез фолієвої кислоти, необхідної для синтезу пуринів і, відповідно, НК (сульфаніламідні); 3) порушують синтез фолієвої кислоти (діамінопіримідини); 4) пригнічують окисно-відновні ферменти (нітрофурані); 5) порушують структуру НК, порушують синтез ергостеролу в ЦПМ грибів (імідазоли та триазоли).

Антибіотики – це хіміотерапевтичні препарати, мікробного, напівсинтетичного або синтетичного походження, які в малих концентраціях зумовлюють гальмування розмноження або загибель чутливих до них мікроорганізмів та пухлинних клітин у внутрішньому середовищі організму. *Класифікації антибіотиків:* 1) за шляхом отримання (біосинтетичні (природні), напівсинтетичні, синтетичні); 2) за походженням (синтезовані бактеріями, синтезовані актиноміцетами, синтезовані грибами, рослинні (фітонциди), тваринні (лізоцим, інтерферон); 3) за спектром дії (широкого, вузького, специфічного); 4) за ефектом дії на мікробну клітину (бактеріостатичні антибіотики, бактеріцидні антибіотики);

5) за механізмом дії на мікробну клітину (порушують синтез клітинної стінки, порушують функцію ЦПМ, порушують синтез білка, порушують синтез нуклеїнових кислот).

Механізм дії різних антибіотиків на мікробну клітину

Механізм дії	Приклади антибіотиків
Пригнічують синтез клітинної стінки	<i>Бета-лактамі антибіотики, циклосерин</i>
Порушують функції клітинних мембран	<i>Поліміксини, полієни, граміцидини</i>
Пригнічують синтез білка на рибосомах	<i>Макроліди, левоміцетин, аміноглікозиди</i>
Пригнічують синтез РНК на рівні РНК-полімерази	<i>Ріфампіцини</i>
Пригнічують синтез РНК на рівні ДНК - матриці	<i>Актиноміцини, група аурелової кислоти</i>
Пригнічують синтез ДНК на рівні ДНК - матриці	<i>Мітоміцин С, антрацикліни, блеоміцин</i>
Пригнічують процеси дихання	<i>Антиміцини, олігоміцини, піоцианін</i>
Пригнічують процеси окисного фосфорилування	<i>Граміцидини, коліцини, тироцидин</i>

Антибіотикорезистентність бактерій:

Природна – визначається властивостями даного виду мікроорганізмів

Набута: первинна (виникає внаслідок спонтанних мутацій до початку лікування антибіотиками) і **вторинна** (виникає при контакті бактерій з антибіотиками, мутації при цьому не пов'язані з дією антибіотика).

Стійкість мікробів до антибіотиків забезпечується генами, які локалізуються в хромосомі або в плазмідах.

Механізми формування резистентності бактерій:

1. Продукція бактеріями ферментів, які модифікують ХТЗ і не дозволяють їм включатись в мішені (в-лактамази, ацетилтрансферази, фосфорилази, нуклеотидази);
2. Зміна проникності клітинної стінки;
3. Прискорення виведення ХТЗ за межі клітини за допомогою транспортних білків;
4. Зміна структури молекул-мішеней;
5. Перехід на нові метаболічні шляхи.

Побічна дія антибіотиків: Алергічні реакції, токсичні реакції, ендотоксикомія, дисбіотичні ураження.

Принципи раціональної хіміотерапії.

- 1) визначення чутливості виділеного збудника до ХТП;
- 2) призначення оптимальної дози;
- 3) оптимальний термін проведення хіміотерапії;
- 4) оптимальний шлях введення (оральний, в/м, в/в); передбачення формування резистентності збудника до ХТП (комбінування ХТП з різним механізмом дії, контроль чутливості в процесі лікування, при необхідності зміна ХТП на інший (з іншим механізмом дії), при тривалій антибіотикотерапії призначення протигрибкових препаратів, як профілактика кандидозу).

Побічна дія хіміотерапевтичних препаратів проявляється в: 1) токсичній дії на певні органи (печінка, нирки, ЦНС, кровотворення, тератогенна); 2) алергізуючій дії; 3) імунодепресивній дії; 4) виникненні дисбактеріозу.

Хіміотерапевтичні препарати: галогенові (хлорамін, хлорцин, пантоцид), (йодоформ, йодикол, розчин Люголя); **окисники** (перекис водню, перстерил, дезоксон-1); **солі важких**

металів (ртуті, срібла, міді, цинку, свинцю, вісмуту); **нітрофурани** (фурацилін, фурадонін, фуразолідон, фурапласт); **барвники** (похідні хіноліну, хіноксаліну); **альдегіди** (формальдегід, лізоформ, цитраль); **кислоти** (бензойна, саліцилова, борна, бікармінт, цигерол); **поверхнево-активні речовини**; **сульфаніламідні препарати** (сульфадимезин, фталазол, сульгін, сульфадиметоксин, бісептол).

Практичне завдання

1. Заповніть таблицю:

Група хіміотерапевтичних препаратів	Приклади препаратів	Механізм дії на збудника
Сульфаніламідні		
Похідні 8-оксихінолону		
Похідні нафтиридину		
Похідні хіноксаліну		
Похідні нітрофурану		
Протилепроїдні		
Протитуберкульозні		
Противірусні		
Протигрибкові		
Протипротозойні		

2. Заповніть таблицю:

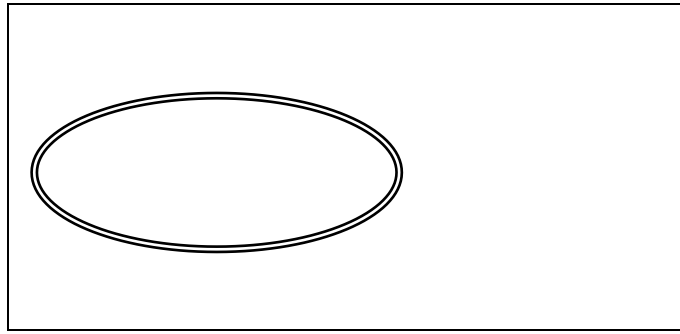
Джерело одержання антибіотика	Приклади антибіотиків
Грибки	
Актиноміцети	
Рослини	
Тварини	
Бактерії	

3. Методи визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків

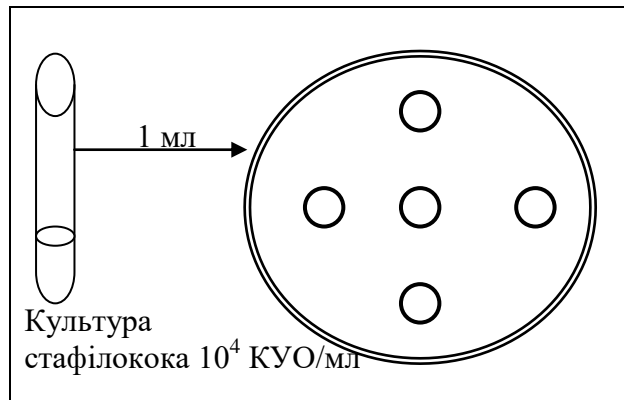
ПРИСКОРЕНІ методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків базуються на:

- Визначенні змін ферментативної активності мікроорганізмів
- Визначенні кольору редокс-індикаторів при зміні окисно-відновного потенціалу під час росту бактерій
- Цитологічній оцінці змін морфології бактеріальних клітин
- Використовуються автоматизовані комп'ютерні системи (Autobac MS-2, Cobas Micro та ін.)

4. Замалювати явище мікробного антагонізму .



5. Визначити чутливість стафілоkokів до антибіотиків методом стандартних дисків.



ЗАПИСАТИ : суть диско-дифузійного методу:

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

ТЕМА 7. Вчення про генетику мікроорганізмів. Організація генетичного апарату бактерій. Генотипова і фенотипова мінливість у мікроорганізмів, практичне значення. Позахромосомні фактори спадковості у бактерій. Плазмідні, їх властивості. Мігруючі генетичні елементи. Рекомбінаційні процеси (трансформація, кон'югація, трансдукція). Генна інженерія і біотехнологія.

Основні питання теми:

1. Генетичний апарат прокаріот, його особливості.
2. Плазмідні. Види плазмід та їх функції. Відмінності між IS-елементами, транспозонами та власне плазмідами.
3. Види мінливості:
 - а - модифікаційна мінливість, механізм модифікацій;
 - б - генотипічна мінливість (мутації та рекомбінації).
4. Мутації. Види мутацій.
5. Дисоціація як форма мутацій у бактерій.
6. Мутагени фізичні, хімічні та біологічні. Методи одержання мутантів.
7. Репарації: фотореактивація та темнова репарація. Механізми репарацій та їх значення.

8. Види рекомбінацій:

а - трансформація, механізм та фази; дослід Гриффітс;

б - трансдукція, компоненти; механізм загальної, специфічної та абортивної трансдукції;

в - кон'югація, її механізм, фази; штами F⁺, F⁻, F', Hfr.

9. Фагова конверсія, її значення. Токсинуотворення та фагова конверсія у бактерій.

10. Механізми рекомбінацій у вірусів.

11. Значення рекомбінацій в еволюції бактерій.

12. Основні принципи генної інженерії.

13. Біотехнологія та її практичне використання

Генетика бактерій та вірусів - наука, що вивчає механізми успадкування генетичних ознак та їх фенотипні прояви.

Вона започаткована блискучими експериментами Грегора Менделя в 60-х роках минулого століття. Закони Менделя були підтверджені дослідями Г. де Фріза, К. Клорренса, Е. Чермака. Значний вклад у розвиток вчення про мінливість мікроорганізмів внесли К. Негелі (засновник теорії плеоморфізму - про безмежну мінливість бактерій), Р. Кох і Ф. Кон, які висунули ідеї мономорфізму, що стверджували постійність та незмінність бактерійних ознак, притаманних певним видам.

Значний внесок у вивчення законів мінливості мікроорганізмів зробили Л. Пастер, І. Мечніков, Л. Ценковський, М. Вавілов, М. Тимофєєв-І Ресоцький. У 1944 р. О. Ейвері, К. Маклауд, М. Мак-Карті довели, що саме ДНК є речовиною, яка зберігає генетичну інформацію. Д. Уотсо і Ф. Крик, М. Уілкінсон у 1953 р. розшифрували генетичний код встановивши особливості механізмів синтезу білка.;

Організація генетичного матеріалу бактерії

Як відомо, генетичний апарат прокаріотів побудовано з двоспіральної нитки ДНК, яка складається з 3×10^9 пар нуклеотидів і замкнута в кільце. Вона суперспіралізована завдяки поліамінам (сперміну, спермідину), іонам магнію і на електронних мікрофотографіях має форму намиста.

ДНК складається з пуринових (аденін, гуанін) та піримідинових (тимін, цитозин) нуклеїнових основ - гетероциклічних азотистих сполук, до складу яких входить цукор дезоксирибоза. З'єднує полімери фосфорна кислота. Між ланцюгами існують ковалентні та водневі зв'язки, тому молекули легко розпадаються. Кількість аденінових основ дорівнює тиміновим, а гуанінових - цитозиновим.

Хромосома у функціональному відношенні поділяється на фрагменти, які називаються генами. Ген - елементарна одиниця спадковості, що контролює синтез специфічного поліпептидного ланцюга (структурний ген) або діяльність структурних генів (ген-регулятор, ген-оператор). Представлено його невеликими ділянками геномної або епісомної ДНК. Кожний ген складається з триплетів (кодонів) нуклеїнових основ, які кодують одну амінокислоту.

Гени, які відповідають за синтез сполуки, позначають рядковими літерами латинського алфавіту, які відповідають назві сполуки. Наприклад, his⁺ - гістидиновий ген, leu⁺ - лейциновий ген. Гени, що контролюють резистентність до антибіотиків, інших препаратів, позначаються літерою r (resistance - стійкість). Чутливі до препаратів бактерії позначаються літерою s (sensitive - чутливий). За цим принципом позначення kan^r, his^r означає резистентні до канаміцину та ристоміцину штами, а kan^s, his^s - чутливі. Фенотип бактерій позначається аналогічно генотипу, однак прописними літерами.

Сукупність генів нуклеоїда та позахромосомних факторів спадковості зумовлюють генотип бактеріальної клітини. Фенотип - індивідуальний вияв генотипу в конкретних умовах існування.

Позахромосомні елементи спадковості:

Іс-последовності – найменші за своїми розмірами, складаються 1000 пар нуклеотидів і не несуть інших генів, крім генів, що відповідають за їх переміщення.

Транспозони – нуклеотидні послідовності, довжина яких сягає 2000-20000 нуклеотидних основ, крім генів, що відповідають за транспозицію, можуть нести гени, кодуєчі інші функції.

Плазміди - кільцеві молекули ДНК молекулярною масою до 10^6 - 10^8 Д з 1,5-400 тис пар основ. Вони можуть існувати в цитоплазмі у вільному стані або бути інтегрованими з клітинною хромосою. Тоді їх називають епісомами. Плазміди містять у своєму складі тра-оперонс (transfer - перенос), який забезпечує їх здатність до передачі, і гени, які кодують якусь ознаку, їх називають **трансмівними**, якщо вони самостійно передаються іншим клітинам за допомогою кон'югації, і **нетрансмівними**, коли не мають власного апарату передачі, а переносяться разом трансмісивними або при трансдукції. Вони можуть існувати в клітині у декількох копіях.

Плазміди виконують регуляторну та кодуєчу функції. Регуляторний ефект їх полягає в здатності представляти власні реплікони при порушенні функціонування клітинних генів; кодуєча роль - у внесенні в клітину нових ознак, які надають їй певних переваг при взаємодії з організмом хазяїна.

Сьогодні відомо декілька десятків різноманітних плазмід. Серед них найдетальніше вивчено плазміди F, Col, R, Ent, Hly, бактеріоциногенності, біодеградації. Плазміди F забезпечують перенос бактеріальної хромосоми при кон'югації. R-плазміди є факторами множинної резистентності до лікарських засобів. Вони кодують стійкість до 10 і більше антибіотиків та солей важких металів (Ni, Cu, Hg). Col-плазміди забезпечують синтез коліцинів - білків з летальною активністю коліформних мікроорганізмів. Hly-плазміди зумовлюють утворення гемолізинів у золотистих стафілококів, Ent-плазміди забезпечують ентеротоксигенну активність штамів кишкової палички. Плазміди біодеградації надають мікроорганізмам здатність утилізувати незвичні субстрати: Cam-плазміда - камфору, Ost-плазміда - окгану тощо.

Запишіть функції плазмід:

Плазміда	Ф у н к ц і я
F	
Col	
R	
Ent	
Hly	
Cam	

Мінливість мікроорганізмів

Однією з основних ознак будь-якої живої структури є її мінливість. Розрізняють два види мінливості мікроорганізмів: неспадкову або модифікаційну та спадкову або генотипну.

Модифікаційна мінливість полягає у зміні різноманітних властивостей мікроорганізмів під впливом факторів навколишнього середовища, однак вона не зачіпає генетичний апарат клітини, спадково не передається. Вона зумовлюється адаптаційними механізмами бактеріальної клітини, її здатністю при звичаюватись до умов довкілля за рахунок активації генів, які перебувають у "німому" стані.

Підлягають модифікаціям найрізноманітніші властивості бактерій. Досліджено зміни морфологічних ознак внаслідок старіння клітини, появу довгастих, зігнутих паличок вульгарного протею під впливом фенолу, зміну морфології холерного вібріона в результаті дії гліцерину. Під впливом пеніциліну, лізоциму, специфічних імунних сироваток грам-позитивні та грам-негативні бактерії можуть втрачати свою клітинну стінку, перетворюючись у L-форми. Клітина при цьому втрачає свою типову морфологію, набуває кулястої форми, в ній можуть з'являтися дрібні зерна, вакуолі. Після припинення дії агента вони набувають звичного виду.

Отже, модифікаційні зміни нетривалі, характеризують ступінь пристосування бактерій до нових умов існування, вони є нормою реакції клітини, засвідчуючи потенційну здатність генотипу реагувати на змінені умови існування.

При **генотипній** мінливості мікроорганізмів різноманітні ознаки бактерій

успадковоюються та передаються нащадкам. Вона може розвиватись внаслідок мутацій та рекомбінацій.

Мутаціями називають будь-які зміни послідовності нуклеотидів в гені, що змінюють його структуру, а відповідно, й функціонування, але не пов'язані з рекомбінаційним процесом. Вважається, що мутаційний процес лежить в основі еволюції мікроорганізмів у природі. Класифікувати мутації можна з різних точок зору. За своїм проявом їх можна поділити на **морфологічні, фізіологічні, біохімічні** та інші залежно від виду ознаки, яка змінилась внаслідок мутації. Серед морфологічних ознак може змінитись забарвлення або характер колонії бактерій. Інша група - це мутації стійкості. Після них мікроорганізм набуває здатності, наприклад, переносити токсичні концентрації речовин, які пригнічують ріст диких штамів (резистентність до антибіотиків). До біохімічних мутацій належать прояви ауксотрофності та прототрофності.

За своїм походженням мутації поділяють на **спонтанні та індуковані**. Спонтанні мутації відбуваються з частотою 10^{-5} - 10^{-12} без втручання експериментатора, за, нібито, оптимальних умов існування мікробів. Вони виникають внаслідок дії якихось не встановлених навколишніх* факторів.

Індуковані мутації виникають під впливом дії на клітину встановлених мутагенних факторів. Частота їх на декілька порядків вища, ніж спонтанних.

За локалізацією мутації поділяють на **нуклеоїдні**, які виникають в нуклеоїді клітини, та **цитоплазматичні**, що виникають у позахромосомних елементах спадковості - плазмідах; за кількістю генів, які мутували, - на **генні та хромосомні**, за величиною - на **великі** (хромосомні) та **малі** (точкові).

Хромосомні мутації частіше бувають **інверсіями** (фрагмент ДНК в молекулі перевертається на 180°), **дуплікаціями** (подвоєння ділянки хромосоми), **делеціями** (випадіння частини хромосоми), **дислокаціями** (відбувається зміна локалізації ділянки ДНК).

Точкові мутації частіше спостерігаються як делеція, вставка фрагменту ДНК (інсерція) або заміна основ. Якщо спостерігають заміну пуринових основ на пуринові, а піримідинових на піримідинові, таку мутацію називають **транзицією**. За умови заміни пуринової основи на піримідинову і навпаки, мутація називається **трансверсією**.

Будь-яка мутація, що змінює генотип дикого штаму, називається **прямою мутацією**. Якщо внаслідок мутації відновлюється вихідний генотип дикого штаму, вона називається **зворотньою**. Однак, коли відновлюється фенотип дикого штаму, але мутація відбувається в локусі, не зачепленому прямою мутацією, такий тип змін одержав назву **супресорної** мутації. Вона може бути внутрішньогенною та позагенною. **Плейотропними** називають такі мутації, які ведуть до зміни двох і більше ознак.

Збільшувати частоту мутаційного процесу можуть особливі фактори, які називають **мутагенами**. Найдоступніший мутаген - ультрафіолетове випромінювання з довжиною хвилі 2600 \AA . Воно викликає особливі пошкодження - утворення димерів тиміну та заміну основ. Іонізуюче опромінення (рентгенівські промені, у-промені) також спричиняє мутації різної природи. Велику групу складають хімічні мутагени. Найбезпечніший з них - азотиста кислота, яка дезамінує аденін. N-нітрозометилсечовина є супермутагеном й канцерогеном, здатним викликати різні типи мутацій. Не поступаються їй за своєю активністю нітрозогуанідин, етилметансульфонат. Високу мутагенну активність мають акридини, аналоги основ (5-бромурацил), які включаються до складу ДНК між основами, викликаючи зсув рамки зчитування. До біологічних мутагенів належить перекис водню, що утворюється при метаболізмі всередині клітин, лікарські препарати, такі як нітрофурані, деякі антибіотики (мітоміцин С).

Однак протягом своєї еволюції бактерійні клітини виробили певні механізми, що забезпечують стабільність генетичного коду, оберігають його від мутацій або ліквідують їх негативні наслідки. Вони називаються **репараціями**. Репаративні процеси поширені у мікробів і контролюються за допомогою спеціальних генів.



Генетичні рекомбінації

Рекомбінації - особливі феномени спадкової мінливості мікроорганізмів, які не пов'язані з мутаційним процесом. Рекомбінанти, що при цьому виникають, успадковують деякі ознаки обох "батьківських" клітин, адже відбувається експресія гена реципієнта та частини генома донора. Генетичні рекомбінації створюють невичерпне джерело різноманітних комбінацій генів, які природа використовує в процесі еволюції. Вважається, що здатність клітин до рекомбінацій Детермінується особливими гес-генами (recombination - рекомбінація).

Виділяють три основні види генетичних рекомбінацій: трансформація, трансдукція та кон'югація.

Трансформація – процес переносу генетичних детермінант від бактерії донора до бактерії реципієнта за допомогою ізольованої ДНК. (експеримент Ф. Гриффітс).

У 1944 р. О. Евері, К. Маклеод та М. Маккарті змодельовали цей феномен *in vitro*, виділили та очистили трансформуючий агент. Ним виявилась молекула ДНК. Трансформація відбувається тільки в тих клітинах, які здатні до неї. Такий стан визначається поняттям компетентності, природа якої остаточно не з'ясована. Вважається, що вона зумовлюється наявністю особливого білка - компонента клітинної мембрани, здатного розщеплювати деякі структурні елементи клітинної поверхні. Таким чином вивільняються рецепторні ділянки, з якими взаємодіє ДНК. Стан компетентності формується на певних стадіях розвитку бактеріальної клітини.

Механізм явища трансформації полягає в тому, що спочатку на поверхні клітини-реципієнта адсорбується невеликий фрагмент дво-ниткової ДНК (1/250-1/500 частина хромосоми клітини-донора). Згодом він проникає всередину клітини, де одна нитка ДНК перетравлюється ендонуклеазами, а інша - вмонтовується у клітинну хромосому. Настає остання фаза процесу - експресія рекомбінантів. Такий процес інтеграції відбувається дуже швидко. Досліджено, що для появи рекомбінантів достатньо п'яти-десятихвилинного контакту клітини-реципієнта з донорською ДНК, а сам процес завершується через 2 год. Трансформуючу активність ДНК можна призупинити хімічними мутагенами, ультрафіолетовим, іонізуючим опроміненням і, особливо, ферментом ДНК-азою, що переконливо свідчить про участь ДНК у цьому процесі.

Здатність до трансформації виявлено у багатьох мікроорганізмів -представників родів *Bacillus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Staphylococcus*, *Escherichia* та інших. За її допомогою можна передати резистентність до антибіотиків, здатність метаболізувати різноманітні речовини, капсулоутворення тощо.

Кон'югація – процес передачі генетичного матеріалу внаслідок фізичного контакту через секс-пілі від бактерії- донора до бактерії- реципієнта. Вперше це явище дослідили Д. Ледерберг та Е. Тейтум на моделі кишкової палички (1946). Необхідною умовою для процесу кон'югації є наявність в клітині-донорі особливого фактору, який називається F-фактор (fertility - плідючість). Він є кон'югативною плазмідною, що існує автономно в цитоплазмі бактерії. Складається вона з генів переносу та генів, що кодують певні ознаки клітини. Бактерії з F-факторами позначаються як F⁺-, а без нього - F⁻- клітини. F-фактор

детермінує утворення статевих ворсинок, отже, здатність клітин до кон'югації. Статеві ворсинки - особливі трубчасті вирости на поверхні клітини. Вони порожнисті, довжина їх у декілька разів перевищує величину бактерії.

Процес кон'югації починається з того, що за допомогою статевих ворсинок клітина-донор торкається клітини-реципієнта, фіксує її та притягує до себе. Після цього плазмід починає реплікуватись, і одна її нитка передається в реципієнтний штам, а інша залишається на місці. Відбувається комплементарний синтез іншої нитки ДНК. Таким чином, F^+ -фактор мають вже дві бактерії. Клітина, яка отримала кон'югативну плазмиду F , набуває здатності синтезувати статеві ворсинки на поверхні, отже, може сама вступати в кон'югацію. В деяких випадках F -плазмід бактерій здатна інтегрувати з хромосоною. Якщо така інтеграція стабільна, утворюється клон клітин, в якому всі бактерії здатні вступати в кон'югацію з досить високою частотою. Такий штам називають штамом Hfr (high frequency of recombination - висока частота рекомбінація).

Трансдукція – процес обміну генетичною інформацією шляхом переносу фагами фрагментів ДНК від клітини-донора до клітини-реципієнта. При останній клітина набуває нових властивостей за рахунок експресії в ній власних генів фага. Яскравим прикладом такого явища є перенос tox^+ генів дифтерійних фагів у дифтерійні палички, внаслідок чого вони набувають токсигенних властивостей. Аналогічне явище спостерігається у збудників ботулізму, стафілококів.

При абортивній трансдукції фагова ДНК та гени бактерії-донора не інтегруються в хромосому реципієнта, а залишаються в цитоплазмі. Під час поділу клітини вони передаються тільки одній з дочірніх клітин, а згодом просто елімінуються з неї.

Практичне значення генетики бактерій

Генетичні феномени знайшли широке практичне застосування в різних галузях науки, техніки, медицини, фармацевтичної промисловості, біотехнології, сільського господарства.

Завдяки застосуванню генетичних методів, одержано високоактивні штами бактерій, грибів, актиноміцетів, дріжджів, які продукували у 200-1000 разів і більше амінокислот, органічних кислот, ферментів, вітамінів, кормового білка, порівняно з вихідними, а також вакцинні штами мікроорганізмів та вірусів. Використання різноманітних мутагенів (ультрафіолетове та радіоактивне опромінення, хімічні речовини) дозволило створити мутантний штам гриба *Penicillium chryzogenum*, який у дикому стані продукував 100 од/мл пеніциліну, а після направленої селекції - 10000 од/мл.

Встановлено, що деякі мікроорганізми, наприклад, *Fuzarium monilif ore*, синтезують біологічно активні субстанції типу фітогормонів, гіберелінів, біоінсектицидів та інших, які є ефективними стимуляторами росту й розвитку вищих рослин. Генетичні підходи дозволили проводити цілеспрямований селекційний процес для одержання продуцентів цих речовин.

Ще донедавна можливість конструювання живих організмів із заданими властивостями здавалась недосяжною. Для здійснення цього фантастичного експерименту необхідно одержати відповідний ген, приєднати його до спеціального вектора - провідника, щоб не бути знищеним клітинними ферментами, ввести в іншу клітину і заставити там працювати. Для всіх цих операцій необхідна участь спеціальних ферментів (їх відомо вже декілька сотен), які здатні розрізати донорську ДНК і ДНК вектора в певних ділянках на окремі фрагменти. Інші ферменти необхідні для приєднання відповідних генів до ДНК. Для розшифрування будови генів використовують методи біохімічного синтезу за участю ферментів ревертаз. Як вектори використовують бактеріальні плазмід, бактеріофаги, деякі віруси. Вони здатні реплікуватись у клітині-реципієнті і містять один або декілька маркерів, що дозволяють розпізнавати рекомбінантні клітини.

Про високу ефективність генно-інженерних методів одержання хімічно чистих біологічно активних речовин свідчить такий факт. Щоб одержати 5 мг соматотропіну, було використано мозок 500 000 овець протягом 5 років, в той час як аналогічну кількість гормону дають 9 л бульйонної суспензії кишкової палички.

Генна інженерія надала можливість одержати інсулін, простагландини, енкефаліни, інтерферон, інтерлейкіни, гормони, різноманітні ферменти, численні хімічно чисті вуглеводи - глюкозу, ксиліт тощо.

Медицина стоїть на порозі розробки методів генної хірургії. Наприклад, у людини деколи зустрічається вроджена недостатність ферменту гіпоксантинуанінфосфорибозилтрансферази (ГГФРТ). У такому випадку вона схильна до подагри, часто спостерігається біль у суглобах, розвивається нирково-кам'яна хвороба. Експерименти на тваринах переконливо довели, якщо вмонтувати ген, відповідальний за синтез цього ферменту, в ретровірус і ввести його у спинний мозок білих мишей, вони починають синтезувати ГГФРТ. Клонований з макрофагів людини ген фактору некрозу пухлин у кишковій паличці при введенні її білим мишам із саркомами викликає їх руйнування.

Широкі перспективи відкриває генна інженерія на шляху створення високоефективних засобів специфічної профілактики інфекційних захворювань. Введення в геном кишкових паличок, вірусів вісповакцини, дріжджів деяких генів вірусів гепатиту В, ящура дозволили розробити субодичні вакцини.

Таким чином, мікробіологічна наука дозволяє створити струнку систему взаємопов'язаних галузей біотехнології, які мають унікальну перевагу - вони засновані на функціонуванні природних систем, які підпорядковуються інтересам людини.

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Учення про інфекцію. Патогенність та вірулентність бактерій. Експериментальна інфекція. Методи визначення DLM, LD₅₀, DCL.

МЕТА: Оволодіти методами визначення вірулентності мікроорганізмів.

Основні питання теми:

1. Фактори, які необхідні для розвитку інфекційного процесу.
2. Патогенність і вірулентність бактерій, одиниці вірулентності.
3. Фактори вірулентності бактерій.
4. Властивості екзо- і ендотоксинів.
5. Фактори вірулентності мікроорганізмів порожнини рота.
6. Поняття «інфекція», ознаки інфекційного захворювання.
7. Форми інфекції.
8. Шляхи поширення мікроорганізмів та їх токсинів в організмі.
9. Динаміка розвитку інфекційного процесу.
10. Основні способи передачі інфекційних хвороб.
11. Експериментальна інфекція. Методика зараження.

Інфекційні хвороби відомі людству з найдавніших часів. У стародавніх письменах згадується про поширення віспи, туберкульозу, прокази, сказу. Нині нараховуються сотні інфекційних хвороб, які спричиняються бактеріями, спірохетами, актиноміцетами, рикетсіями, вірусами, грибами, найпростішими. За даними ВООЗ, наймасовішими є інфекції, які супроводжуються діареєю, - 4 млрд випадків щорічно, малярія - 500 млн, гострі інфекції дихальних шляхів - 395 млн, венеричні захворювання - 330 млн, Кір - 42 млн, кашлюк - 40 млн та ін. Загальна кількість заражених вірусом імунодефіциту людини досягає 28 млн чоловік, 6 млн людей вже померло від цієї хвороби. За останні 20 років з'явилося понад 30 нових інфекційних захворювань (хвороба легіонерів, волосатоклітинний лейкоз, геморагічні лихоманки Марбурга, Ебола, СІД та ін.), проти більшості з яких поки що немає задовільних засобів лікування та профілактики. Загальною ознакою цих хвороб є заразливість, тобто

можливість передачі від хворої до здорової людини і здатність до масового, епідемічного розповсюдження. При вивченні інфекційних хвороб користуються термінами "інфекція", "інфекційний процес", "інфекційна хвороба", які походять від латинського слова "infectio" - зараження.

Інфекція – сукупність фізіологічних (адаптаційних) і патологічних процесів, які розвиваються в організмі в результаті взаємодії з мікроорганізмом, тобто це всі види взаємодії макро- і мікроорганізмів у певних умовах зовнішнього та соціального середовищ, незалежно від того, розвивається явна або прихована хвороба, чи тільки мікробіоносійство. Аналогічний процес, викликаний найпростішими, називається **інвазією**.

Інфекційний процес - сукупність усіх захисних і патологічних реакцій організму, які виникають у відповідь на проникнення і дію збудника.

Інфекційна хвороба - крайній ступінь розвитку інфекційного процесу, що проявляється певними клінічними, патолого-анатомічними, біохімічними, мікробіологічними й імунологічними ознаками.

Отже, поняття "інфекція" ширше, ніж поняття "інфекційний процес" та "інфекційна хвороба".

Виникнення і розвиток інфекційного процесу (хвороби) залежать від трьох факторів: ступеня патогенності мікроорганізму, імунологічної реактивності макроорганізму й умов зовнішнього і соціального середовищ.

Джерело інфекції – хвора людина або тварина і бактеріоносії.

Вхідні ворота інфекції – місце, через яке збудник проникає в організм.

Патогенність – це видова здатність певних мікроорганізмів викликати інфекційний процес.

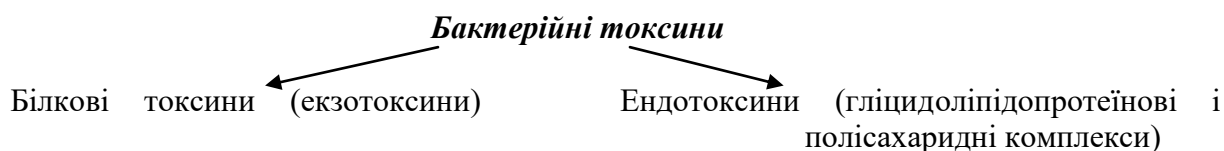
Вірулентність – це ступінь патогенності. Вона є штамовою ознакою і визначається метаболічною активністю бактерійних клітин, їх компонентів і продуктів, які пригнічують захисні механізми господаря.

Для характеристики патогенних мікроорганізмів встановлені одиниці вірулентності. Одна з них **-DLM (Dosis letalis minima)** - мінімальна смертельна доза. Це та найменша кількість мікробів або їх токсинів, яка при зараженні викликає загибель 90-95 % чутливих тварин. Друга одиниця - **DCL (Dosis certa letalis)** - найменша доза, яка викликає смерть 100 % взятих у дослід тварин. Найбільш об'єктивною, точною і прийнятою в лабораторних дослідженнях є **LD₅₀ (Dosis letalis₅₀)** - доза, що вбиває половину заражених тварин.

Вірулентні властивості патогенних мікроорганізмів визначаються такими **факторами**: токсиноутворення, адгезивність, інвазивність, наявність капсул, агресинів, полісахаридів, певних антигенів та ін.

Інвазивність зумовлена наявністю: гіалуронідази, нейрамінідази, фібринолізину, лецитинази.

Фактори, які пригнічують фагоцитоз: агресини, бактерійні капсули, коагулаза.



Бактеріальні білкові токсини поділяються на три класи:

Клас А – токсини, які виділяються у зовнішнє середовище (гістотоксин, гемолізину, холероген, дермонекротоксин).

Клас В – токсини, які частково секретуються і частково зв'язані з клітиною (нейротоксин, тетаноспазмін).

Клас С – токсини, зв'язані з клітиною (дизентерійний екзотоксин, А і В токсини збудника чуми).

За механізмом дії білкові токсини (екзотоксини) поділяються:

Цитотоксини – ентеротоксини, дермонекротоксин.

Мембранотоксини – гемолізини, лецкоцидини.

Функціональні блокатори - холероген

Гістотоксин – дифтерійний гістотоксин

Ексфоліатини – стафілококовий токсин

Синтез більшості екзотоксинів зумовлений наявністю tox^+ генів, які часто розміщені в плазмідах.

Ендотоксини представлені ліпідними і полісахаридними залишками, які є інтегральними компонентами клітинної стінки грамнегативних бактерій. Їх біологічна активність нагадує дію багатьох медіаторів запалення.

Основні періоди розвитку інфекційного процесу:

1. **Інкубаційний** – з моменту проникнення збудника до появи перших ознак захворювання.
2. **Продромальний** – період провісників хвороби.
3. **Період основних проявів захворювання** – інфекційний процес досягає найвищої інтенсивності.
4. **Період згасання захворювання** (реконвалесценції). Можливе видужання, перехід у хронічну інфекцію, бактеріоносійство або смерть.

Розповсюдження патогенних бактерій

(дати визначення)

Бактеріємія-

Вірусемія –

Септицемія –

Сепсис –

Септикопіїмія-

Токсинемія –

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Структура імунної системи (Т- і В-системи). Взаємодія клітин в імунній відповіді. Імунітет. Види імунітету Неспецифічні фактори захисту організму і методи їх визначення. Фагоцитоз, система комплементу.

Основні питання теми:

1. Структура імунної системи: центральні і периферичні органи імунної системи.
2. В-лімфоцити. Стадії розвитку. Особливості будови . Функція.
3. Т-лімфоцити: функціональні властивості.
4. Антигенпрезентуючі клітини (макрофаги, В-лімфоцити, дендритні клітини), їх характеристика.
5. Взаємодія клітин в імунній відповіді:
6. Специфічний захист організму - імунітет:
 - а - визначення імунітету;
 - б - основна функція імунітету;
 - в - види і форми інфекційного імунітету;
7. Неспецифічні фактори захисту організму:
 - а - місцевий тканинний захист (шкіра, слизові оболонки, запальна реакція, лімфатичні вузли);
 - б - клітинний захист (фагоцитоз), природні кілери (ПК);
 - в - гуморальний захист (лізоцим, пропердин, бета-лізини, трансферин, лактоферин, еритрин, інтерферон, С-реактивний білок, фібрoneктин), вітаміни А, С, Е;
 - г - комплемент; альтернативний і класичний шляхи активації комплементу;
 - д - загальні захисні реакції на рівні організму (адаптаційні механізми, видільна функція, температурна реакція).

Центральні органи імунної системи: тимус і кістковий мозок.

Периферичні органи імунної системи: селезінка, лімфатичні вузли, мигдалики, лімфоїдна тканина кишечника, бронхів. Центральною фігурою імунної системи є лімфоцит. Лімфоцити - це спеціалізовані клітини, які здатні реагувати (відповідати) лише на окрему групу структурно подібних антигенів. Ця здатність існує ще до першого контакту імунної системи з даним антигеном і обумовлена наявністю мембранних рецепторів, специфічних до детермінант цього антигена. Кожен клон лімфоцитів відрізняється від іншого будовою антигензв'язуючої ділянки своїх рецепторів.

Імунітет - це спосіб захисту організму від живих тіл і речовин, які несуть на собі ознаки чужорідної генетичної інформації. Основною функцією імунітету є систематичне розпізнавання всього чужорідного, що проникає в організм (бактерії, гриби, віруси, найпростіші), власних змінених клітин, підтримання гомеостазу, нейтралізація, видалення та знищення чужорідних агентів. Пізнавати “не своє” а “ чуже “ - бережливо берегти “своє”. **Імунітет – це комплекс реакцій організму, який зумовлює його біологічну індивідуальність і забезпечує її збереження.**

Неспецифічний імунітет забезпечується шкірою, слизовими оболонками, сальними та потовими залозами, миготливим епітелієм слизових оболонок, травними ферментами; гуморальними та клітинними факторами захисту, до яких належать: лізоцим, комплемент, інтерферони, білки гострої фази, нормальні антитіла, фагоцити, нормальна мікрофлора тіла людини природні кілери (ПК). Природні кілери (ПК) – це великі гранулярні лімфоцити, в гранулах яких міститься білок перфорин і серинові естерази – гранзими. Їх вміст у крові становить 5-20 % від загальної кількості лімфоцитів. Вони виконують в організмі різноманітні функції: контролюють ріст первинних і метастатичних пухлинних клітин, розвиток мікробних і вірусних інфекцій, виробляють медіатори, приймають участь в

імунорегулюючих процесах, контролюють проліферацію і диференціацію гемопоетичних клітин, започатковують розвиток трансплантаційного імунітету. Природні кілери стійкі до іонізуючої радіації і не фагоцитуються.

Набутий (специфічний імунітет) забезпечується клітинними та гуморальними факторами захисту, до яких належать В-лімфоцити, Т-хелпери, цитотоксичні Т-лімфоцити, імунний фагоцитоз, антитіла (імуноглобуліни). Розрізняють наступні форми специфічного захисту: антитілоутворення, кіллерна функція лімфоцитів, алергічні реакції, імунологічна пам'ять, імунологічна толерантність, імунний фагоцитоз. У фагоцитозі виділяють такі основні стадії:

1. Наближення фагоцита і мікроба в результаті позитивного хемотаксису.
2. Адгезія мікроорганізму на поверхні фагоцита.
3. Активація мембрани фагоцита, що обумовлює поглинання мікроорганізму.
4. Внутріклітинне перетравлення чужорідної частинки і видалення продуктів розпаду за межі клітини.

Фактори специфічного імунітету формуються впродовж життя людини. Виділяють набутий природний активний імунітет, який формується після перенесеної інфекції. Набутий природний пасивний імунітет формується в результаті потрапляння в організм дитини через плаценту специфічних антитіл від матері. Штучний активний імунітет виникає після вакцинації. Штучний пасивний імунітет виникає після введення сироваток або імуноглобулінів.

Практична робота

1. Визначення активності лізоциму в сироватці крові.

В 6 пробірок розливають по 0,5 мл фізіологічного розчину. В першу пробірку вносять 0,5 мл досліджуваної сироватки (1:5). Починаючи з цієї пробірки послідовно переносять із пробірки в пробірку закінчуючи п'ятою по 0,5 мл. З п'ятої - 0,5 мл виливають. Потім в усі пробірки додають по 0,5 мл 1 млрд. суспензії *Micrococcus luteus*. Після прогрівання пробірок при 45 °C протягом 15 хв враховують результати за максимальним розведенням сироватки, що викликало розчинення бактерій.

2. Визначення титру комплементу в сироватці крові.

В десять пробірок вносять сироватку хворого (1:10), починаючи з 0,05 мл в першу, збільшуючи кількість в кожній наступній на 0,05 мл і до 0,5 мл. Відповідно до загального об'єму 1,5 мл додають в кожну пробірку визначену кількість буферного розчину, а потім по 1,0 мл попередньо сенсibiliзованих еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом години пробірки охолоджують, еритроцити осаджують центрифугуванням і оцінюють результати за гемолізом.

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Загальна характеристика антигенів та антитіл.

Серологічні реакції. Сучасні методи імунологічних досліджень при інфекційних хворобах. (імунолюмінесцентний та імуноферментний аналіз). Генодіагностика, полімеразна ланцюгова реакція)

МЕТА: Ознайомитись з основними властивостями антигенів, практичним значенням антигенів мікроорганізмів; основними класами імуноглобулінів і їх характеристиками.

Оволодіти методиками постановки серологічних реакцій.

Основні питання теми:

1. Загальна характеристика антигенів;
2. Антигени мікробних клітин і їх практичне значення;
3. Перехреснореагуючі антигени, антигенна мімікрія;
4. Антигени головного комплексу гістосумісності (I і II класів).
5. Характеристика аутоантигенів.
6. Методика одержання бактеріальних антигенів.
7. Загальна характеристика імуноглобулінів:
8. Методика визначення кількості імуноглобулінів у порожнині рота.(реакція Манчіні).
9. Поняття про серологічну ідентифікацію і серологічну діагностику.

Антигени – це генетично чужорідні речовини природного або синтетичного походження, які при потрапленні в організм спричиняють специфічні імунні реакції (синтез специфічних антитіл, формування клітин імунної пам'яті, імунологічної толерантності). Антигени мають наступні властивості: антигенність, специфічність, чужорідність, імуногенність, колоїдність, розчинність в рідинах організму. Розрізняють повноцінні антигени (речовини, яким властива антигенність та специфічність) та неповноцінні антигени (речовини, які проявляють антигенність тільки після прикріплення до білка - шлеппера). Повноцінний антиген складається з білка-шлеппера, який обумовлює антигенність та детермінантної групи - епітопа, який обумовлює специфічність.

Бактеріальні клітини мають наступні антигени:

O-антиген (термостабільний, соматичний, ліпополісахаридний, міститься в клітинній стінці),

H-антиген (дзгутиковий, білковий, термолабільний),

K-антигени (капсульні, полісахаридні, розміщені на поверхні O-антигена) можуть містити термолабільні та термостабільні фракції,

Vi-антиген знаходиться на поверхні клітинної стінки, але повністю її не покриває, протективні антигени – білки, на які виробляються захисні антитіла, позаклітинні – білки екзотоксинів та екзоферментів.

Замалювати антигени бактеріальної клітини.

Антитіла - білки сироватки крові, які утворюються у відповідь на потраплення в організм антигенів і здатні специфічно взаємодіяти з ними. Молекула імуноглобуліну складається з двох важких H-ланцюгів та двох легких L-ланцюгів. Всі ланцюги з'єднуються між собою дисульфідними зв'язками. Молекула імуноглобуліну має два Fab-фрагменти (місця взаємодії з антигенною детермінантою) та один Fc-фрагмент (місце фіксації антитіла на білках комплементу, мембранах клітин). Розрізняють IgG (проходять через плаценту, високий їх рівень вказує на період реконвалесценції, складають 70-80%), IgM (синтезуються в організмі першими, не проходять через плаценту, високий їх вміст вказує на наявність гострої інфекції, становлять 6-13 %), IgA (секреторний IgA синтезується в клітинах секреторного епітелію кишок, верхніх дихальних шляхів, сечостатевої системи, ротової порожнини; сироватковий IgA лізує антиген за наявності лізоциму та комплементу) складає 6-13 %, IgE (беруть участь в алергічних реакціях негайного типу, складають 0,0002 %), IgD (не проходять через плаценту, не зв'язують комплемент, збільшується їх кількість при імунодефіцитних станах, алергічних хворобах, під час вагітності).

Замалювати основні класи імуноглобулінів:

Імунні реакції використовують для діагностичних та імунологічних досліджень у хворих та здорових людей. З цією метою використовують серологічні реакції, тобто методи вивчення антитіл та антигенів за допомогою реакцій антиген-антитіло, які визначають в сироватці крові та інших рідинах організму. Всі серологічні реакції використовуються з двоєю метою: 1) для виявлення антитіл у сироватці хворого з допомогою стандартних антигенів-діагностиків - для серологічної діагностики інфекційної хвороби; 2) для визначення невідомих антигенів (бактерій, грибів, вірусів) за відомими стандартними сироватками-антитілами - для серологічної ідентифікації збудників.

В залежності від характеристики антигену, який приймає участь в серологічній реакції, розрізняють наступні види реакцій:

ВИДИ СЕРОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

Реакція	Антигени	Інші компоненти реакції
Аглютинації	Бактерії	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Непрямої (пасивної) гемаглютинації	Антигени збудників, адсорбовані на еритроцитах	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Преципітації	Гаптени, екстракти, лізати	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Гемолізу	Еритроцити	Комплемент
Зв'язування комплекменту	Гаптени, лізати, екстракти	Комплемент, гемолітична система
Опсонізації	Бактерії	Фагоцити (нейтрофіли)
Нейтралізації	Токсини, віруси	

Сучасні серологічні реакції з міченими антитілами

Імуноферментний аналіз
Радіоімунний аналіз
Реакція імунофлуоресценції
Імуноблотінг (вестернблот)

Використання серологічних реакцій

Мета постановки реакції	Необхідний відомий компонент реакції
Виявлення в сироватці крові пацієнта специфічних антитіл до антигенів збудника (<i>серодіагностика</i>)	Антигенний діагностикум (містить відомі антигени збудника)
Виявлення виду збудника за його антигенною структурою (<i>ідентифікація збудника</i>)	Діагностична сироватка (містить специфічні відомі антитіла до антигенів збудника)

Реакція аглютинації латекса (РАЛ) Для постановки РАЛ використовують сенсibiliзовані частинки полістиролового латекса діаметром 0,5-1,2 мкм, які в присутності гомологічного імунологічного реагента (антигена або антитіла) склеюються. Ця реакція відбувається досить швидко – протягом 2-7 хв, що дозволяє її застосовувати як експрес-метод виявлення антигенів і антитіл. Навантажені антитілами часточки латексу широко використовуються для виявлення антигенів вірусів і бактерій.

Навантажуючи латекс антигенами, можна визначати наявність антитіл у сироватці хворого. Таку модифікацію РАЛ використовують для виявлення протигрипозних, протикраснушних, протикорових антитіл тощо.

Реакція коагуляції (КОА). Для постановки КОА використовують золотисті стафілококи (штам Cowan 1). У клітинній стінці цих мікроорганізмів міститься білок А, який має значну спорідненість до Fc фрагмента IgG людини і кролика. Тому молекули IgG після адсорбції на стафілококах, що мають білок А, орієнтовані в оточуюче середовище своїми вільними Fab фрагментами, в яких знаходиться активний центр антитіла.

Реакцію ставлять на скляних пластинках, змішуючи рівні об'єми (1-2 краплі) досліджуваного матеріала (кров, сеча, слина, фільтрати фекалій та інш.) і стафілококового діагностикуму. Суміш ретельно перемішують і через 2-5 хв на темному фоні враховують результати. На темному фоні повинна чітко буде проглядатись дрібнозерниста аглютинація стафілококів.

Реакція преципітації відрізняється від аглютинації за характером антигенів: в реакції аглютинації вони корпускулярні, навіть цілі клітини, а в реакції преципітації – молекулярні, в розчинному стані. Антигенами можуть бути екстракти мікроорганізмів, тканин, органів, хімічні речовини.

Феномен преципітації полягає в тому, що **антитіла (преципітини)**, з'єднуючись із розчинними **антигенами (преципітиногенами)**, зумовлюють **утворення осаду (преципітату)** або помутніння розчину. За **титр реакції** приймають найбільше розведення **антигена**, яке дає позитивний результат.

Феномен преципітації широко використовується в мікробіологічній практиці. В судово-медичній експертизі його застосовують для визначення видової належності крові. За допомогою специфічних преципітуючих сироваток проти білка людини, різних тварин і птахів можна встановити, якому виду належить виявлена кров. Таким же чином визначають можливу фальсифікацію продуктів (м'ясо, мед). Ця реакція застосовується для діагностики епідемічного цереброспінального менінгіту, чуми, дизентерії, визначення інфікованості збудником сибірки продуктів і матеріалів тваринного походження (шкіра, хутро, щетина). Реакцію Ухтерлоні використовують для визначення антигенного складу органів і тканин, як

нормальних, так і пухлинних, кількості антигенів у складних системах. Вона має важливе значення в діагностиці дифтерії, віспи та інших захворювань.

Імуноелектрофорез є поєднанням двох методів – електрофорезу в гелі і наступної після нього подвійної імунодифузії.

Для проведення реакції імуноелектрофорезу використовують скляні пластинки, предметні скельця, на які наносять тонкий шар агару або агарози. Спочатку антигени розміщують в центрі пластинки і розділяють їх в електричному полі. Потім у канавку, зроблену в агарі паралельно до лінії розділу антигенів, вносять специфічну сироватку. Дифундуючи назустріч один одному, антигени і антитіла у місці контакту утворюють дуги преципітації.

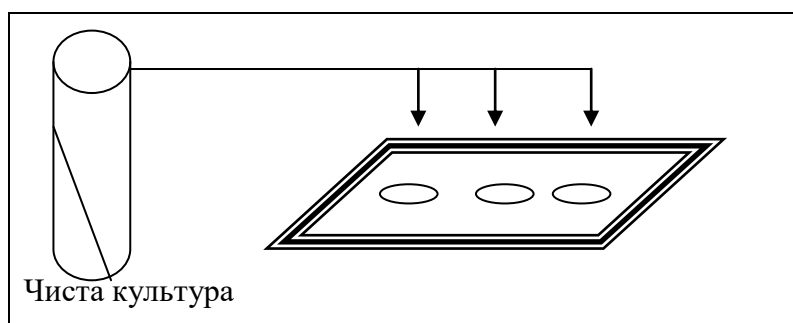
Для реакції лізису необхідні антиген, антитіло й комплемент. Антигеном можуть бути мікроорганізми, еритроцити або інші клітини. Як антитіло (лізин) використовують специфічну сироватку або сироватку хворого. Залежно від того, проти яких клітин спрямована дія лізинів, вони мають свої назви: проти бактерій – бактеріолізину, спірохет – спірохетолізину, еритроцитів – гемолізину, проти інших клітин – цитолізину. Комплемент при утворенні комплексу клітина (антиген) – антитіло, зв'язується з ним, активується за класичним шляхом і викликає розчинення клітини. **Без комплементу лізис клітини неможливий.** Розрізняють декілька реакцій лізису: бактеріолізу, гемолізу, цитолізу.

Реакція зв'язування комплементу (РЗК). Характерною відмінністю РЗК від реакції аглютинації й преципітації є участь в ній, крім антигена й антитіла, інгредієнтів реакції гемолізу, яка виступає у вигляді індикаторної системи. Взаємодія антигена з антитілом не завжди зумовлює візуальні зміни, які дозволяють визначити результат реакції. Проте відомо, що при утворенні комплексу антиген - антитіло до нього завжди приєднується комплемент. Якщо антиген і антитіло не відповідають один одному, то комплемент не зв'язується, залишається вільним у системі. При додаванні комплексу еритроцити барана – гемолізину вільний комплемент, зв'язуючись з ним, викликає гемоліз еритроцитів. Цей принцип і покладено в основу РЗК. При відповідності антигена антитілу з ним зв'язується комплемент. Щоб переконатись в цьому, додають еритроцити барана й гемолітичну сироватку. При відсутності гемолізу роблять висновок, що реакція позитивна, при наявності гемолізу – реакція негативна.

Практична робота

1. Постановка орієнтовної реакції аглютинації на склі.

На поверхню знежиреного предметного скла з допомогою піпетки на деякій відстані одна від одної наносять по краплі діагностичних сироваток (ОК-колі, комплексна сальмонельозна, полівалентна шигельозна) у розведенні 1:5, і вносять петлею суспензію живої досліджуваної культури в кожную краплю. Для контролю змішати досліджувану культуру з краплею фізіологічного розчину. Необхідно пам'ятати, що перед взяттям культури із скошеного агару і після внесення її у сироватку необхідно кожний раз пропалити петлю. Перемішати вміст крапель обережним похитуванням скла до появи аглютинації з тією чи іншою полівалентною сироваткою.



Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Імунодефіцити. Автоімунні хвороби. Специфічна профілактика і терапія інфекційних хвороб. Імунний статус. Оцінка імунного статусу . Імунокорегуюча терапія

Основні питання теми:

1. Імунодефіцитні стани.
2. Первинні імунодефіцити:
3. Вторинні імунодефіцити.
4. Автоімунні хвороби
5. Імунний статус.
6. Оцінка імунного статусу
7. Імунокорегуюча терапія
8. Характеристика та класифікація вакцинних препаратів.
9. Принципи та етапи виготовлення вбитих вакцин.
10. Класифікація імунних сироваток.
11. Принципи отримання та застосування антитоксичних лікувально-профілактичних сироваток. Одиниці дії сироваток.
12. Принципи застосування діагностичних сироваток.
13. Державний контроль якості препаратів.

Імунодефіцит (також **імунна недостатність** або **імунодефіцитний стан**) — це порушення структури і функції якої-небудь ланки цілісної імунної системи, втрата організмом здатності чинити опір будь-яким інфекціям і відновлювати порушення своїх органів. Крім того, при імунодефіциті сповільнюється або взагалі зупиняється процес оновлення організму. При імунодефіциті людина стає беззахисною не тільки перед звичайними інфекціями, як грип або дизентерія, але також перед бактеріями і вірусами, які раніше не могли викликати захворювання, оскільки імунна система не дозволяла їм розмножуватися у великій кількості. Один з прикладів — пневмоциста Каріні — бактерія, що живе в легенях практично кожної людини. При здоровій імунній системі вона не заподіює людині ніякої шкоди, але при імунодефіциті може викликати серйозне ураження легенів — пневмоцистну пневмонію. Крім того, імунодефіцит приводить до загострення тих хронічних захворювань, які були у людини, але не мали яскраво вираження.

Імунодефіцит — це спадковий або набутий дефект імунної системи, що виражається різким зниженням кількості окремих популяцій імунокомпетентних клітин або порушенням синтезу імуноглобулінів (агаммаглобулінемія). Пошкодження або недостатність функції одного або декількох ланок в імунній системі приводить до порушення імунної відповіді, до тієї форми імунопатології, яка отримала назву *імунодефіцитних станів*.

При імунодефіцитному стані спостерігається підвищена чутливість до інфекцій. Найбільш часто виникаючі у таких хворих інфекції можна розділити на **дві категорії**:

- При порушеннях, пов'язаних з **імуноглобулінами**, компонентами комплемента і фагоцитарною активністю, різко зростає сприйнятливність до повторних інфекцій, що викликані бактеріями, які володіють капсулою (піогенними, або гноєродними бактеріями).

- У випадках порушень в системі **Т-клітинного** імунітету підвищується чутливість до мікроорганізмів (від дріжджів до вірусів), широко поширених і в нормі нешкідливих: у здорових людей до них швидко розвивається резистентність, але у хворих з недостатністю Т-

клітинної функції вони здатні викликати летальні інфекції. Це так звані *опортуністичні інфекції*.

Всі іммунодефіцитні стани за етіологічними факторами діляться на дві великі групи:

спадковий іммунодефіцит (також *спадково обумовлений іммунодефіцит* або *первинна іммунологічна недостатність*),

набутий іммунодефіцит (також *вторинна іммунологічна недостатність*).

Спадковий іммунодефіцит визначається як *специфічною* імунною недостатністю, так і *неспецифічною* імунною недостатністю. Причинами захворювань, обумовлених специфічною імунною недостатністю, служать порушення функцій Т-лімфоцитів або В-лімфоцитів — основи набутого імунітету. **Неспецифічні іммунодефіцити** пов'язані з порушеннями в таких елементах імунної системи, як комплемент і фагоцити, що діють при імунній відповіді неспецифічно. В основі спадково обумовленого іммунодефіцитного стану лежать генетично зумовлені дефекти клітин імунної системи.

В той же час набутий іммунодефіцит є результатом дії чинників зовнішнього середовища на клітини імунної системи. До найповніше вивчених чинників набутого іммунодефіциту відносяться опромінення, фармакологічні засоби і синдром набутого іммунодефіциту (СНІД) людини, викликаний вірусом іммунодефіциту людини (ВІЛ). Порушення в роботі імунної системи можуть бути зв'язані і з комплексними порушеннями, що зачіпають багато ланок імунітету.

Первинні іммунодефіцити - це нездатність імунної системи реалізувати роботу тої чи іншої ланки імунної відповіді, обумовлена грубими генетичними дефектами. Виявляються в 1-2 % хворих з іммунодефіцитом і погано піддаються корекції.

Первинні іммунодефіцитні синдроми проявляються відразу після народження дитини, мають чітко виражену спадковість і найчастіше передаються рецесивно. Коли дефекти розвитку стосуються специфічних факторів імунітету, їх називають первинними специфічними іммунодефіцитами, на відміну від спадково зумовлених порушень неспецифічних факторів захисту – фагоцитозу, комплементу та ін.

Робоча клінічна класифікація первинних іммунодефіцитних станів

I. Недостатність гуморальних імунних реакцій (системи В-лімфоцитів):

1. Первинна агаммаглобулінемія, зчеплена з Х-хромосою (хвороба Брутона).

II. Недостатність клітинних імунних реакцій (системи Т-лімфоцитів):

1. Лімфоцитарна дисгенезія (синдром Незелофа, французький тип іммунодефіциту).

2. Гіпоплазія тимусу і паращитоподібних залоз (синдром Ді-Джорджі).

III. Комбіновані іммунодефіцитні стани:

1. Синдром Луї-Бар (атаксії-телеангіектазії).

2. Синдром Віскотта-Олдріча.

IV. Розлади кооперації Т- і В-клітин в імунній відповіді.

V. Недостатність системи комплементу.

VI. Недостатність фагоцитозу

За даними офіційної статистики, первинні іммунодефіцитні стани виявляються вельми рідко (1 випадок на 100-1000 новонароджених). Але цей показник слід вважати заниженим через відсутність налагодженої роботи з іммунологічного скринінгу. Найтипівішими проявами усіх перелічених форм іммунодефіцитів є розвиток синдрому рецидивних інфекцій.

Він характеризується значною патологічною активністю нормальної мікрофлори, неефективністю етіотропних засобів, швидким формуванням вогнищ хронічної інфекції або генералізацією інфекційного процесу. Найчастіше уражаються органи дихання, травлення, сечостатева система, шкіра і слизові оболонки системи, які безпосередньо контактують з довкіллям і заселені умовно-патогенною флорою. На дефекти клітинної ланки вказують рецидивні вірусні і грибові процеси, поствакцинальні ускладнення, інвазії найпростіших. Слабкість клітинної ланки зумовлює розвиток бактерійних уражень шкіри і слизових оболонок, найчастіше кокової етіології. Досить часто такі зміни супроводжуються вродженими вадами розвитку (стигмами). Дещо рідше трапляються прояви онкологічних і автоімунних захворювань.

Відомо **10 основних факторів**, які допомагають запідозрити практичному лікарю первинний імунodefіцит у хворого на підставі клініко-анамнестичних даних (Jeffrey Model Foundation, New York):

1. Вісім або більше випадків отиту протягом 1 року.
2. Два або більше випадків синуситів протягом 1 року.
3. Два або більше місяців призначення антибіотиків без значного клінічного ефекту.
4. Дві пневмонії або більше протягом 1 року.
5. Значне відставання дитини у рості або у масі тіла.
6. Рецидивні глибокі абсцеси підшкірної клітковини або абсцеси органів.
7. Персистентна молочниця ротової порожнини або інших ділянок шкіри чи слизових оболонок після однорічного віку.
8. Потреба у внутрішньовенному введенні антибіотиків для досягнення антибактерійного ефекту.
9. Дві «глибокі» інфекції або більше: менінгіти, остеомієліти, целюліти, або сепсис в анамнезі.
10. Первинні імунodefіцити в родинному анамнезі.

Якщо розмістити **основні клінічні прояви** первинних імунodefіцитів за частотою, з якою вони виявляються, то отримаємо типовий клінічний профіль такої дитини.

Клінічні синдроми, які виявляються практично в усіх дітей:

- Рецидивні інфекції верхніх дихальних шляхів.
- Тяжкі бактерійні інфекції.
- Персистентні інфекції без реакції на адекватну етіотропну терапію.

Клінічні синдроми, які часто виявляються:

- Затримка або зупинка росту.
- Інфікування незвичайними (малопатогенними) збудниками.
- Ураження шкіри (себорея, піодермії, некротичні абсцеси, екзема, телеангіектазія, різноманітні висипи, множинні папіломи).
- Стійкий кандидоз шкіри чи слизових оболонок.
- Діарея чи мальабсорбція.
- Персистентні синусити, мальабсорбція.
- Рецидивні бронхіти, пневмонії.
- Випадки автоімунної агресії.
- Менша кількість лімфатичних вузлів чи мигдаликів.
- Гематологічні розлади: апластична анемія, гемолітична анемія, нейтропенія, тромбоцитопенія.

Клінічні синдроми, які виявляються у частини хворих:

- Втрата маси тіла.
- Часта безпричинна гарячка.
- Хронічний кон'юнктивіт.

- Парадонтоз.
- Лімфаденопатія.
- Гепатоспленомегалія.
- Тяжкий перебіг вірусних інфекцій.
- Хронічні захворювання печінки.
- Арталгії чи артрити.
- Хронічні стоматити.

Серед первинних імунодефіцитів найчастіше виявляється асимптомний селективний дефіцит Ig A (частіше, ніж інші первинні розлади разом узяті). Навіть якщо не враховувати цієї патології, то розлади синтезу імуноглобулінів (селективні і комбіновані) складають половину усіх вроджених дефектів імунної системи. Ще у третині випадків уражається клітинний імунітет, хоч у 20 % хворих дітей - це комбіновані ІД з переважним ураженням Т-ланки. Розлади фагоцитозу виявляються у кожного п'ятого новонародженого з ІД, дефіцит комплементу - у 2 %.

Вторинний (набутий) імунодефіцит – це клініко-імунологічний синдром, який:

- а) розвивається на фоні раніше нормального функціонування імунної системи;
- б) характеризується стійким зниження кількісних і функціональних показників специфічних та/або неспецифічних факторів імунорезистентності;
- в) являється зоною ризику розвитку хронічних інфекційних захворювань, автоімунної патології, алергічних хвороб і пухлинного росту.

Класифікація вторинних імунодефіцитів:

I. За темпами розвитку:

1. гострий імунодефіцит (зумовлений гострим інфекційним захворюванням, травмою, інтоксикацією, тощо);
2. хронічний імунодефіцит (розвивається на фоні хронічних гнійно-запальних захворювань, автоімунних порушень, пухлин тощо).

II. За рівнем поломки:

1. порушення клітинного (Т-ланки) імунітету;
2. порушення гуморального (В-ланки) імунітету;
3. порушення системи фагоцитів;
4. порушення системи комплементу;
5. комбіновані дефекти.

III. За поширеністю:

1. «місцевий» імунодефіцит;
2. системний імунодефіцит.

IV. За ступенем важкості:

1. компенсований (легкий);
2. субкомпенсований (середньої важкості);
3. некомпенсований (важкий).

Причини розвитку вторинних імунодефіцитів

1. Протозойні інвазії та гельмінтози (малярія, токсоплазмоз, лейшманіоз, трихінельоз, аскаридоз тощо).
2. Бактеріальні інфекції: стафілококова, пневмококова, менінгітококова, туберкульоз тощо.
3. Вірусні інфекції:
 - а) гострі – кір, краснуха, грип, вітряна віспа, гепатити, герпес тощо;
 - б) персистуючі (тривалі) – хронічний гепатит В, СНІД тощо;
 - в) вроджені – цитомегалія, краснуха.
4. Порушення харчування: білково-енергетична недостатність, дефіцит мікроелементів (Zn, Cu, Fe), вітамінів (А, С, Е, РР), виснаження, кахексія, втрата білка через кишечник, нирки, вроджені порушення метаболізму, ожиріння тощо.

5. Злоякісні новоутворення, особливо лімфопроліферативні.
6. Автоімунні захворювання.
7. Стани, які призводять до втрати імунокомпетентних клітин та імуноглобулінів (кровотечі, опіки, нефрит).
8. Екзогенні та ендогенні інтоксикації (отруєння, тиреотоксикоз, некомпенсований цукровий діабет).
9. Імунодефіцит після різних впливів:
 - а) фізичних (іонізуюче випромінювання тощо);
 - б) хімічних (імуносупресори, хіміотерапія, кортикостероїди, наркотики, гербіциди, пестициди тощо).
10. Порушення нейрогуморальної регуляції: стресові впливи (важка травма, операції, фізичні, в тому числі спортивні, перенавантаження, психічні травми тощо).
11. «Природні» імунодефіцити – ранній дитячий вік, геронтологічний вік, вагітність.

Автоімунні

захворювання

Аутоімунні захворювання - це велика група хвороб, які можна об'єднати на підставі того, що в їх розвитку приймає участь агресивно налаштована проти свого ж організму імунна система. Причини розвитку майже всіх аутоімунних захворювань до цих пір невідомі. З урахуванням величезного розмаїття аутоімунних захворювань, а також їх проявів і характеру перебігу вивчають і лікують ці хвороби самі різні фахівці. Які саме залежить від симптомів хвороби. Так, наприклад, якщо страждає тільки шкіра (пемфігоїд, псоріаз) потрібен дерматолог, якщо легкі (фіброзуючий альвеоліт, саркоїдоз) - пульмонолог, суглоби (ревматоїдний артрит, анкілозуючий спондилоартрит) - ревматолог і т.д. Однак існують системні аутоімунні захворювання, коли уражаються різні органи і тканини, наприклад, системні васкуліти, склеродермія, системний червоний вовчак і т.д. (Або ж захворювання «виходить» за рамки одного органу, так, наприклад, при ревматоїдному артриті можуть вражатися не тільки суглоби, але і шкіра, нирки, легені), в таких ситуаціях найчастіше захворювання лікує лікар, спеціалізація якого пов'язана з найяскравішими проявами хвороби або декілька різних фахівців.

Прогноз хвороби залежить від безлічі причин і сильно відрізняється залежно від різновиду хвороби, її перебігу та адекватності проведеної терапії.

Лікування аутоімунних захворювань спрямоване на придушення агресивності імунної системи, яка вже не розрізняє «своє і чуже». Лікарські засоби, спрямовані на зниження активності імунного запалення, називаються імуносупресантами. Основними імуносупресантами є преднізолон (або його аналоги), цитостатики (циклофосфамід, метотрексат, азатіоприн та ін) і моноклональні антитіла, які діють максимально целеноправлено на окремі ланки запалення. Багато хворих часто задають питання: як можна придушувати свою ж імунну систему, як я буду жити з «поганим» імунітетом? Придушувати імунну систему при аутоімунних хворобах не можна, а потрібно, не при всіх звичайно, та й інтенсивність лікування буде залежати від виду хвороби. Так, наприклад, при аутоімунному тиреоїдиті пригнічувати імунну систему не потрібно, а при системному васкуліті (наприклад, мікроскопічному поліангіїті) просто життєво необхідно! Люди живуть з пригніченим імунітетом довгі роки, зростає частота інфекційних захворювань, але це свого роду «плата» за лікування хвороби. Іншим є питання «чи можна приймати імуномодулятори»? Імуномодулятори бувають різні, більшість з них протипоказано особам, що страждають аутоімунними хворобами, однак, деякі імуномодулятори можуть бути корисні, наприклад, внутрішньовенні імуноглобуліни (за певних ситуацій).

Автоімунні захворювання нерідко представляють діагностичну складність, потребують особливої уваги лікарів і пацієнтів, дуже різні за своїми проявами і прогнозом, і тим не менше, більшість з них успішно лікується.

Системні аутоімунні захворювання. До даної групи відносяться хвороби аутоімунного походження, які вражають дві і більше системи органів і тканин, наприклад, м'язи і суглоби, шкіра, нирки, легені і т.д. Деякі форми захворювання набувають системність тільки при прогресуванні хвороби, наприклад, ревматоїдний артрит, інші можуть відразу вражають

багато органів і тканин. Як правило, системні аутоімунні хвороби лікують ревматологи, однак, нерідко таких хворих можна виявити і у відділенні нефрології, пульмонології.

Основні системні аутоімунні хвороби:
Системний червоний вовчак;
Системний склероз (склеродермія);
Ревматоїдний артрит (не завжди має системні прояви);
Системні васкуліти (це група різних окремих хвороб, об'єднаних на підставі запалення судин).

Аутоімунні захворювання з переважним ураженням суглобів
Ревматоїдний артрит.

Аутоімунні захворювання органів ендокринної системи
Даною групи хвороб відносять такі відомі захворювання як аутоімунний тиреоїдит (тиреоїдит Хашимото), хвороба Грейвса (дифузний токсичний зоб), цукровий діабет 1-го типу та ін. На відміну від багатьох аутоімунних захворювань саме цієї групи хвороб не потрібне проведення імуносупресивної терапії. Більшість пацієнтів спостерігаються ендокринологами або сімейними лікарями (терапевтами).

Аутоімунні захворювання крові
Даною групою хвороб спеціалізовано займаються гематологи. Найбільш відомими захворюваннями є:

Аутоімунна гемолітична анемія.
Тромбоцитопенічна пурпура.
Аутоімунна нейтропенія.

Аутоімунні захворювання нервової системи
Дуже велика група хвороб. Лікування даних захворювань прерогатива неврологів. Найбільш відомими аутоімунні хворобами нервової системи є:

Множинний склероз.
Синдром Гієна-Барі.
Міасенія Гравіс.

Аутоімунні захворювання печінки і шлунково-кишкового тракту
Дані захворювання лікують, як праїло, гастроентерологи.
Аутоімунний гепатит.
Первинний біліарний цироз.
Первинний склерозуючий холангіт.
Хвороба Крона. Виразковий коліт.
Целиакія.

Аутоімунний панкреатит.

Аутоімунні захворювання шкіри
Псоріаз.
Дискоїдний червоний вовчак.
Ізольовані васкуліти шкіри.
Хронічна кропив'янка (уртикарний васкуліт).
Вітіліго.

Аутоімунні захворювання нирок
Первинні гломерулонефрити і гломерулупатії (велика група хвороб).
Синдром Гудпасчера.

Системні васкуліти з ураженням нирок, а також інші системні аутоімунні захворювання з ураженням функції нирок.

Аутоімунні захворювання серця
Ревматична лихоманка.
Системні васкуліти з ураженням серця.
Міокардити.

Аутоімунні захворювання легенів
Ідіопатичні інтерстиціальні хвороби легенів (фіброзуючі альвеоліти).
Саркоїдоз легень.

3) **шкідливі екологічні фактори:** контакт з фізичними, в тому числі радіаційними, хімічними, біологічними факторами (проживання, виробничі умови);

4) **перенесені травми, захворювання:** тяжкі або ускладнені травми, опіки і відмороження; хронічні запальні процеси, інтоксикації, септичні стани;

5) **ятрогенні впливи:** оперативні втручання (особливо обширні; апендектомія, тонзилектомія, тимектомія при втручаннях на серці), променева і хіміотерапія при неопроцесах, прийом глюкокортикоїдів та інших гормональних засобів, пероральних контрацептивів, імунодепресантів, протизапальних засобів (необхідно враховувати дози і тривалість прийому);

б) **шкідливі звички і особливості способу життя:** куріння, зловживання наркотиками і алкогольними напоями, гіподинамія і сидячий спосіб життя і роботи, стреси, нераціональне харчування.

На сьогодні у клініках та імунологічних лабораторіях світу використовують значну кількість **АГ-АТ-неспецифічних тестів** (досліджень, які не спрямовані для виявлення конкретних збудників, клітин, ліків, речовин чи АТ до них). Такі дослідження характеризують роботу імунної системи загалом. В той же час, вони мають різну спрямованість, діагностичну і прогностичну значущість, визначаються за різними методиками і модифікаціями. Тому запропоновано набір уніфікованих методик, розділених на 2 рівні. Це значною мірою допомогло розробити загальні критерії діагностики імунопатологічних станів, отримувати співставлювані результати у різних лабораторіях, проводити масові епідеміологічні обстеження у різних регіонах (в тому числі, у зонах екологічних катастроф).

До **тестів I рівня** належить визначення:

- загального числа лейкоцитів;
- абсолютного і відносного вмісту лімфоцитів;
- числа Т- і В-лімфоцитів (деякі автори відносять цей тест до II рівня);
- фагоцитарної активності лейкоцитів;
- вмісту імуноглобулінів класів А, М, G;
- титру комплементу.

До цих досліджень можна також включити визначення:

- бактерицидної активності сироватки крові.

Важливими параметрами, які просто визначаються і цінні для імунологічного скринінгу онкопроцесів, є:

- визначення числа великих грануловмісних лімфоцитів (за даними більшості дослідників - НК-клітин);
- тест Говало (малі голоядерні лімфоцити).

Після аналізу зазначених показників і **співставлення їх з клініко-анамнестичними** даними лікар мусить вирішити необхідність продовжити імунологічне обстеження пацієнта або визнати його імунологічно здоровим (виключити наявність виражених стійких вад функціонування імунної системи). Аналіз імунограми I рівня повинен виконуватися **кожним практикуючим лікарем**.

До **тестів II рівня** належить визначення:

- субпопуляцій Т-лімфоцитів (Т-хелперів, Т-супресорів, їх співвідношення);
- числа Т-активних лімфоцитів;
- активності бластної трансформації лімфоцитів на мітогени (обов'язково - з фітогемаглютиніном) і АГ;
- числа В-лімфоцитів, які несуть на поверхні імуноглобуліни різних класів;
- активності НК-клітин;
- компонентів комплементу;
- вмісту імуноглобуліну Е;
- рівня природних АТ (гетерофільних аглютинінів).

Надзвичайно важливим також є визначення:

- співвідношення класів Т-хелперів (Тх1/Тх2) та продукції ними цитокінів;
- експресії рецепторів до цитокінів, активізаційних маркерів;
- HLA-DR (див. розділ з імуногенетики);
- активності популяцій лімфоцитів після преінкубації (перебуванні) їх у розчинах стандартних імуотропних засобів.

Було би помилкою вважати, що перелік усіх цих обстежень обов'язковий для кожного хворого. Як правило, користуються методом «імунного компасу». При здійсненні першого етапу визначають ланки (напрямок «компаса»), які страждають максимально. На другому етапі обстеження проводять у напрямку, який дозволяє уточнити особливості і глибину виявлених розладів. Така тактика значною мірою скорочує, полегшує і здешевлює процес діагностики.

Існують певні **правила імунологічного обстеження** (за К. Лебедевим, І. Понякіною із змінами):

1. Забираючи кров для імунологічного обстеження, необхідно максимально усунути вплив факторів, що зумовлюють фізіологічні коливання показників імунограми (час, харчування, значне фізичне чи психоемоційне навантаження та ін.). Тому рекомендують дотримуватися таких правил:

- кров забирати натще, бажано зранку; у жінок - бажано в лютеїновій фазі менструального циклу (абсолютно неадекватним є обстеження під час місячних);
- враховувати ті фактори, вплив яких усунути неможливо (вік, стать, пора року);
- анамнестично виявити факти психофізичних перевантажень, які не можна попередити, і враховувати їх в інтерпретації імунограми. Твердження про те, що в умовах стаціонару вони значною мірою усуваються, неправомірне (згідно з дослідженнями американських психологів, вже після 1 тижня перебування у стаціонарі здорових добровольців у них розвивався «госпітальний синдром» - лікарняний дистрес, пов'язаний з різкими змінами умов життя);
- недоцільно забирати кров на тлі гострих інфекційних захворювань чи в період реконвалесценції (якщо саме їх перебіг не є предметом вивчення), після щеплень;
- оптимальним є обстеження не раніше, ніж через тиждень після завершення імунотерапії (час, достатній у більшості випадків для переходу імуноної системи від «заданого» терапією режиму функціонування до «власного»). Тому недостовірними є дані, отримані на тлі дії потужних імуотропних факторів (особливо цитостатичної і променевої терапії);

2. Показники імунограми найкраще порівнювати з індивідуальною нормою (це правило рекомендоване для гемограми та імунограми). Дуже цінними є показники співвідношення у динаміці (наприклад, Т-лімфоцитів до і після лікування).

3. Комплексний аналіз імунограми більш інформативний, ніж характеристика кожного показника зокрема. Згідно з концепцією Р. Петрова, імунона система діє за принципом «мобілів» - рухомих, відносно автономних, але взаємозв'язаних ланок. Тому, при однаковій реакції системи в цілому, окремі показники у різних людей можуть реагувати індивідуально. Відповідно, однотипні зміни якогось із показників можуть тлумачитися по-різному залежно від стану інших показників.

4. Якщо показники індивідуальної норми не відомі, особливо необхідно обстежити пацієнта декілька разів через певні проміжки часу. Загалом, аналіз імунограми в динаміці більш інформативний як в діагностичному, так і у прогностичному плані, ніж одноразове обстеження.

5. Реальну інформацію в імунограмі несуть лише значні зсуви показників, в той час як слабкі лише вказують на індивідуальні особливості реакції:

аналіз імунограми необхідно розпочинати з виділення тих показників, які максимально відрізняються від нормальних величин;

- вважається, що їх зміни в межах 10-15 % є фізіологічні, 20-40

Загальна характеристика імунобіологічних препаратів.

Імунобіологічні препарати (медичні імунобіологічні препарати, МІБП, англ. *biological drugs*) — це лікарські препарати, діючі речовини яких мають біологічне походження (або є штучно синтезованими аналогами природних речовин) і призначені для проведення специфічної профілактики (імунопрофілактики), діагностики та лікування (імунотерапії) інфекційних або алергічних захворювань. До МІБП належать: вакцини, анатоксини, імуноглобуліни, сироватки, інтерферони, бактерійні препарати, алергени, бактеріофаги та інші.

Препарати можуть отримувати шляхом: культивування штамів мікроорганізмів і клітин еукаріотів, екстракції речовин з біологічних тканин і крові, включаючи тканини та кров людини, тварин і рослин, застосування технології рекомбінантної ДНК, гібридомної технології, репродукції живих агентів в ембріонах чи організмі тварин. До цієї категорії не відносять біогенні лікарські препарати, діючі речовини яких не несуть у собі генетично чужорідної інформації, тобто мають молекулярну масу менше 5000 дальтон (наприклад, Актотегін). Обіг, контроль за якістю і безпекою медичних імунобіологічних препаратів практично в усіх країнах знаходиться під особливим контролем держави та здійснюється окремо від інших фармацевтичних препаратів. Відпуск здійснюється за рецептом. Це пов'язано з особливостями їх виробництва, проведення доклінічних і клінічних випробувань, оскільки процес дослідження МІБП відбувається за участі не лише хворих, а і здорових людей, у тому числі і дітей (наприклад, випробування вакцини). В Україні функцію державного органу контролю несе ДП «Центр Імунобіологічних препаратів». Використання МІБП у специфічній профілактиці захворювань називається імунопрофілактикою, у лікуванні хвороб — імунотерапією. Для специфічного (етіотропного) лікування інфекцій використовують широкий спектр МІБП - сироватки, імуноглобуліни, бактеріофаги, інтерферони. За міжнародною класифікацією медичних препаратів (АТХ) — імунобіологічні препарати належать до різних груп, наприклад J01XX11 (бактеріофаги), J06 (сироватки та імуноглобуліни), J07 (вакцини), L03AB (інтерферони)

Інтерферони (IFN) — клас білків, що виділяються клітинами організмів більшості хребетних тварин у відповідь на вторгнення чужорідних агентів, таких як віруси, деякі інші паразити та ракові білки. Завдяки інтерферонам клітини стають несприйнятливими по відношенню до цих агентів. Механізм дії інтерферонів полягає у викликанні каскаду реакцій, що приводять до руйнування дволанцюжкових РНК та деяких інших молекул. Інтерферони людини поділяють на групи залежно від типу клітин, в яких вони утворюються: б, в, г і т.д. б-інтерферони включають кілька видів білків з молекулярною масою близько 20 000 Да. За типом рецепторів, через які відбувається сигнальна дія інтерферонів, інтерферони поділяють на типи I (IFN-б, IFN-в, IFN-ш), II (IFN-г) і III (IFNLR1, IL10R2). Найбільш вивченою властивістю інтерферону є його здатність перешкоджати розмноженню вірусів. Він утворюється в клітинах ссавців і птахів у відповідь на вірусну інфекцію. Інтерферон — це активний противірусний агент, що характерний для більшості типів клітин і діє більшою чи меншою мірою проти більшості вірусів.

При зараженні клітини вірус починає реплікувати свій геном всередині клітини та розмножуватися, вбиваючи клітину. Клітина-хазяїн при зараженні вірусом починає продукцію інтерферону, який виходить з клітини і вступає в контакт з сусідніми клітинами, роблячи їх несприйнятливими до вірусу. Він діє, запускаючи ланцюг подій, що приводять до придушення синтезу вірусних білків, і в деяких випадках збірки і виходу вірусних частинок (шляхом активації олігоаденілатциклази). Таким чином, інтерферон не володіє прямою противірусною дією, але викликає такі зміни в клітині, які перешкоджають розмноженню вірусу. Утворення інтерферону можуть стимулювати не тільки інтактні віруси, але і різні інші агенти, наприклад деякі інактивовані віруси, дволанцюжкові молекули РНК, синтетичні дволанцюжкові олігонуклеотиди і бактеріальні ендотоксини. Інтерферон викликає і цілий ряд інших біологічних ефектів, зокрема пригнічує розмноження клітин. В певних умовах він може перешкоджати розвитку раку. Встановлено також, що інтерферон діє на імунну

систему і викликає зміну клітинних мембран. Побічною дією інтерферонів можуть бути деякі симптоми, притаманні для інфекційних хвороб — підвищення температури та відчуття ломки м'язів.

Розробка методів отримання лейкоцитарного і рекомбінантного інтерферону в препаративних кількостях, а також високоефективних методів їх очищення відкрила можливість застосування цих препаратів в лікуванні вірусних гепатитів. В наш час випускаються комерційні препарати: людський лейкоцитарний, лімфобластний «Велферон» (Wellferon), фібробластний (Ферон); інтерферон і інтерферони, отримані генно-інженерними методами: рекомбінантні альфа-(Роферон, Реальдерон та інші), бета- і гамма-інтерферон (Гаммаферон).

Індуктори інтерферону.

Індуктори інтерферону — це речовини природного чи синтетичного походження, які стимулюють в організмі людини продукцію власного інтерферону, що сприяє формуванню захисного бар'єру, який запобігає інфікуванню організму вірусами та бактеріями, а також регулює стан імунної системи та інгібує ріст злоякісних клітин. Перспективними інтерферогенами є низькомолекулярні похідні акридонукусуної кислоти (карбоксиметилакридон — СМА), а також різні похідні флуоренонів. Прикладом найвідоміших лікарських препаратів-індукторів інтерферону є циклоферон та тілорон. У 2000–2003 роках успішно пройшов клінічне випробування, а з 2005 року виробляється російський препарат кагоцел.

За межами країн колишнього СРСР індуктори інтерферонів (зокрема, в країнах Західної Європи та Північної Америки) не зареєстровані в якості лікарських засобів, а їх клінічна ефективність не опублікована в авторитетних наукових журналах.

Імуномодуляторами вважають ті засоби, які можуть впливати на імунну систему як в позитивному, так і в негативному напрямках, усуваючи її дисбаланс.

До цієї групи медикаментозних засобів відносять гормони і екстракт тимусу, мієлопиди, монокіни, які виділяються макрофагами, лімфокіни що синтезуються лімфоцитами, інтерферони, а також імунотоксини.

Імунокоригуючими препаратами є гормони тимусу, лімфокіни, трансфер-фактор та інш. Широко вживаються левамізол, препарати дріжджевої ДНК (нуклеїнат натрію). Левамізол сприяє диференціації Т-клітин, коригує гіпофункцію Т-лімфоцитів і фагоцитоз. Нуклеїнат натрію стимулює міграцію стовбурових клітин, кооперацію Т- і В-лімфоцитів, індукує синтез інтерферону.

Речовини, які пригнічують імунітет (**імунодепресанти**), набули особливої актуальності в зв'язку із збільшенням числа пересадок аллогенних органів, тканин, клітин. До них відносяться алкілюючі препарати, антиметаболіти, цитостатики, стероїди.

Вакцини - препарати, одержані з бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів, їх хімічних компонентів, продуктів життєдіяльності або штучним рекомбінантним шляхом, які застосовуються для активної імунізації людей і тварин з метою профілактики і лікування інфекційних хвороб.

Основні види сучасних субдиничних вакцин

Антивірусні вакцини	Антибактеріальні вакцини	Антипаразитарні вакцини
1. Вітряної віспи-опері-зуючого герпесу 2. Цитомегаловірусна 3. Гепатиту А 4. Гепатиту В 5. Простого герпесу 2 6. Грипозна А, В 7. Парагрипозна 8. Респіраторно-синциті-альна 9. Антирабічна 10. Ротавірусна 11. Проти ВІЛ	1. Ентеротоксину E. coli 2. Холерна 3. Гонококова 4. Лепрозна 5. Менінгококова 6. Кашлюкова 7. Протитуберкульозна 8. Черевнотифозна 9. Протиправцева 10. Пневмококова 12. Стрептококова груп А, В	1. Лейшманіозна 2. Протималярійна

Для профілактики інфекційних захворювань застосовують вакцинні препарати з метою створення штучного активного імунітету. Вакцини вводять за календарним планом щеплень, затвердженим МОЗУ від 2002 року та епідеміологічними показаннями. Вакцини також використовують для терапії переважно хронічних інфекційних хвороб.

Класифікація вакцин.

1. Живі:

а) атенуовані (БЦЖ, проти чуми, поліомієліту, туляремії, сибірки, бруцельозу, кору, паротиту, грипу, червоної висипки, висипного тифу);

б) дивергентні (проти натуральної віспи);

в) генно-інженерні (векторні, рекомбінантні).

2. Інактивовані:

а) корпускулярні (проти червоного тифу та паратифів А і В, дизентерії, холери, кашлюку);

б) аутовакцини (для лікування хронічних захворювань: стафілококових інфекцій, дизентерії, клебсієльозів тощо).

3. **Хімічні:** а) класичні (ТАВте), б) напівсинтетичні (проти сальмонельозу, грипу, гепатиту В, протипухлинні); в) синтетичні; г) рибосомальні (із мікобактерій туберкульозу, сальмонел, шигел, стрептококу, холерного вібриону); ліпосомальні. 4. Анатоксини (правцевий, ботулінічний, дифтерійний, дизентерійний).

4. **Генно-рекомбінантні** містять Аг збудників, отримані з використанням методів генної інженерії, і включають тільки високоімуногенною компоненти, що сприяють формуванню захисного імунітету. Можливі кілька варіантів створення генно-інженерних вакцин.

- Внесення генів вірулентності в авірулентні або слабовірулентних мікроорганізми.
- Внесення генів вірулентності в неспоріднені мікроорганізми з подальшим виділенням Аг і його використанням в якості імуногена.
- Штучне видалення генів вірулентності і використання модифікованих організмів у вигляді корпускулярних вакцин.

Ряд сучасних противірусних вакцин сконструйовано шляхом введення генів, кодуєчих основні Аг патогенних вірусів і бактерій в геном вірусу вісповакцини (НВsAg вірусу гепатиту В) і непатогенних для людини сальмонел (НВsAg вірусу гепатиту В і Аг токсину правцевої палички). Іншим прикладом служить введення генів збудника туберкульозу в вакцинний штаб БЦЖ, що надає йому велику активність в якості дивергентної вакцини. Такі препарати відомі як векторні вакцини.

Для **активної імунопрофілактики гепатиту В** також запропонована вакцина, що представляє собою НВsAg вірусу. Його отримують з дріжджових клітин, в які введено вірусний ген (у формі плазмиди), що кодує синтез НВsAg. Препарат очищають від дріжджових білків і використовують для імунізації.

Живі вакцини отримують шляхом послаблення (атенуації) вірулентності збудників на поживних середовищах, в організмі тварин або в культурі клітин. Основним принципом отримання живих вакцин є зменшення вірулентності, але разом з тим збереження вихідної вірулентності. Для зниження вірулентності використовують фізичні, хімічні, біологічні фактори. Зниження вірулентності має бути стійкою, спадково закріпленою ознакою мікроорганізму. Живі вакцини мають володіти залишковою вірулентністю, тобто здатністю приживатися в організмі. **Інактивовані (убиті)** вакцини отримують шляхом повного знешкодження вірулентності мікроорганізмів. Для цього використовують фізичні та хімічні фактори (високу температуру, дію ультрафіолетових променів, спиртів, формаліну тощо).

Схема виготовлення інактивованої вакцини:

1. Накопичення біомаси культури мікроорганізму.
2. Перевірка чистоти культури (мікроскопія).
3. Приготування маточного завису культури у фізіологічному розчині.

4. Інактивація мікробного завису.
5. Контроль стерильності вакцини.
6. Титрування (стандартизація) вакцини.
7. Консервування вакцини.
8. Дослідження нешкідливості.
9. Розливання вакцини в ампули.
10. Складання вихідних даних.

Хімічні вакцини отримують шляхом дезінтеграції мікробної клітини, очищення антигенів, які концентрують і адсорбують на різних основах, збільшуючи при цьому імуногенну властивість. Для цього використовують різні фізико-хімічні фактори. Хімічні вакцини мають великі переваги перед живими та інактивованими вакцинами. Вони найменш реактогенні, мають імуногенну направленість, високо очищені, не викликають ускладнень при введенні в організм.

Анатоксини отримують із бактеріальних екзотоксинів при дії на них 0,3-0,4 % розчину формаліну протягом 3-4 тижнів при температурі 39-40°C. При такій обробці токсин втрачає токсичні властивості, але зберігає антигенні. Анатоксини очищують, концентрують та адсорбують на ад'юванті. При введенні в організм людини створюється антитоксичний імунітет. За кількістю антигенів, які входять до складу вакцин, останні поділяють на моно-, ди-, три-, тетра- та асоційовані препарати.

Сироваткові препарати застосовують для створення штучного пасивного негайного імунітету та для лікування інфекційних захворювань, в розвитку яких переважну патогенетичну роль відіграють екзотоксини бактерій. Імуноглобуліни призначають для негайної профілактики інфекційних захворювань контактним особам та послабленим людям переважно дітям та людям похилого віку. Нормальні імуноглобуліни застосовують для лікування деяких імунодефіцитних станів.

Класифікація сироваткових препаратів.

1. За призначенням:

- а) діагностичні (аглютинуючі, преципітуючі, гемолітичні);
- б) лікувально-профілактичні.

2. За походженням:

- а) гетерологічні;
- б) гомологічні (сироватки людини та гама-глобуліни нормальні, донорські, плацентарні);
- в) біотехнологічні (моноклональні антитіла, імунотоксини, антиідіотипові антитіла).

3. За механізмом дії:

- а) антитоксичні (протиравцева, протидифтерійна, притигангренозна, протиботулінічна);
- б) антибактеріальні (протилептоспірозна, протичумна, протисибіркова, протипневмококова);
- в) протівірусні (протигрипозна, протиенцефалітна, антирабічна, протикорова);
- г) протипухлинні (імунотоксини, протипухлинні антитіла);
- д) антилімфоцитарні (сироватка, гамаглобулін, імунотоксин);
- е) протиалергічні.

Сироваткові препарати отримують шляхом спеціальної обробки крові штучно гіперімунізованих тварин. Такі сироватки називаються гетерологічними. Гомологічні сироватки отримують із крові людей, які перехворіли відповідними інфекційними захворюваннями або із крові донорів, попередньо імунізованих вакцинними препаратами. Лікувально-профілактичні антитоксичні сироватки очищають від баластних білків, визначають їх нешкідливість, апірогенність та антигенність. Їх титрують, тобто визначають концентрацію антитіл, яку виражають в міжнародних одиницях (МО) або антитоксичних одиницях (АО). Діагностичні сироватки отримують з крові гіперімунізованих мілких лабораторних тварин. Їх не очищують, але визначають титр антитіл та застосовують для серологічної ідентифікації чистої культури мікроорганізмів. Гама-глобуліни (імуноглобуліни) отримують шляхом ретельного

очищення імунних сироваток. Захисна дія лікувально-профілактичних сироваток та гама-глобулінів триває 3-4 тижні. Сироваткові препарати вводять людям за методом Безредко з обов'язковою попередньою внутрішньо-шкірною пробою.

Підпис викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

Гіперчутливість негайного і сповільненого типів. Алергія. Типи алергічних реакцій. Анафілаксія.

Основні питання теми:

1. Дати визначення поняттю "алергія", суть сенсibilізації організму.
2. Класифікація алергенів.
3. Типи реакції гіперчутливості за Джеллом і Кумбсом:
 - а - реакції анафілактичні і atopічні, значення реагінів і анафілактичних антитіл у механізмі виникнення цих реакцій;
 - б - реакції цитолітичні і цитотоксичні;
 - в - реакції гістотоксичні, обумовлені імунними комплексами;
 - г - гіперчутливість сповільненого типу (туберкулінові реакції).
4. Методи виявлення специфічної сенсibilізації.
5. Принципи імунотерапії алергічних станів.
6. Значення алергічних проб у діагностиці інфекційних захворювань.

Алергія — змінена чутливість організму тварин і людини до чужорідних речовин (здебільшого білкової природи), що вводяться повторно. Речовини, які викликають алергію (т. з. алергени), здебільшого мають білкову природу (тваринні та рослинні білки, білкові речовини мікроорганізмів).

Алергени можуть потрапляти в організм через шкіру і слизові оболонки або надходити в кров з вогнищ запалення. Прояви алергії виникають лише тоді, коли перше і повторне надходження алергену розділені певним проміжком часу (не менше 5–7 днів). До проявів алергії належать протилежні за своїми ознаками, але спільні за первинним механізмом явища зміненої реактивності організму — анафілаксія (підвищення чутливості до шкідливої дії алергену) та імунітет (зниження чутливості внаслідок посилення опірності організму).

Алергени поділяються на два типи: екзоалергени та ендоеалергени.

Механізм виникнення алергії: коли алерген потрапляє до організму на його знешкодження виділяються певна кількість антитіл, проте якщо в організмі є якісь порушення, то їх виділиться в надлишку, що призведе до виділення надлишку високомолекулярних сполук, які і спричиняють розвиток алергії.

Інфекційні алергени. До інфекційних алергенів відносяться алергени бактерій, грибів, вірусів, найпростіших і гельмінтів. Алергічні реакції, в основному, виникають при контакті з умовно-патогенними і непатогенними мікроорганізмами і рідше – із патогенними. Особливу увагу як алергени привертають гриби. Є дані, що саме вони є причиною 20-30% АЗ. Спори і гіфи грибів можна виявити всюди – у землі, воді, повітрі, приміщеннях. Реально людина контактує зі 100 видами грибів.

3. Симптоми алергії

Алергії відповідають наступні ознаки:

- нежить і сльозотеча;
- повторюваний регулярно сухий нічний кашель;
- хрипи в легень і задуха;

- сверблячка, подразнення в горлі;
- висипка й інші шкірні реакції.

Алергія відрізняється вираженим клінічним поліморфізмом. У процес алергії можуть втягуватися будь-які тканини й органи. При розвитку алергії частіше страждають шкірні покриви, шлунково-кишковий тракт, система органів дихання. Виділяють алергійні реакції негайного й уповільненого типу, однак такий розподіл алергії значною мірою умовно.

Так, кропивниця вважається однією з форм алергії негайного типу, однак, кропивниця може супроводжуватися сироватковою хворобою, як класичною формою алергії уповільненого типу.

Розрізняють наступні клінічні варіанти алергій: сінна лихоманка (поліноз), риніт, алергічна токсикодермія, кон'юнктивіт, кропивниця, набряк Квінке, сироваткова хвороба, гемолітична криза, тромбоцитопенія, алергійні дерматози, ентеропатії, бронхіальна астма, анафілактичний шок.

Любий окремих алерген може стати причиною цілого ряду симптомів. Наприклад, алерген пилок берези в хворого полінозом може стати причиною не тільки ринокон'юнктивіту, але спровокувати бронхоспазми і викликати кропивницю. Більшість страждаючих алергій реагує на цілий спектр алергенів, наприклад, на пилкові, побутові і епідермальні алергени одночасно. Речовини, наприклад, метали, алерген латексу, лікарські і косметичні засоби, засоби побутової хімії, харчові продукти, аероалергени й інші алергени можуть впливати на шкіру або безпосередньо проникати в організм через слизувату шлунково-кишкового тракту або при ін'єкційному введенні. Алергія також може виникнути у відповідь на укуси комах або емоційні розлади.

Алергійні ураження шкіри називаються алергодерматозами. Загальні ознаки алергодерматозів - сверблячка і почервоніння шкіри, висипання на шкірі по типу кропивниці (набряки, пухирі) або екземи (відлущування, сухість, зміна малюнку шкіри). Найбільш розповсюджені алергодерматози – атопічний дерматит (ексудативний діатез, нейродерміт), кропивниця, контактний дерматит.

Сінна лихоманка. Сверблячка в носоглотці, нежить, сльозіння очей, чхання і подразнення в горлі іноді називається алергійним ринітом і звичайно викликається алергенами, які є присутніми у повітрі як, наприклад, пилок, пил і вовна тварин. Така реакція організму називається "сінною лихоманкою", має сезонний характер, виникає в період цвітіння різних рослин.

Класичними проявами алергійного кон'юнктивіту є "сльози градом", "відчуття піщинки" в очах, печіння і світлобоязнь. Харчова алергія в дітей найчастіше виявляється у формі діатезу. Симптоми з боку дихальних шляхів можуть бути обумовлені не тільки аероалергенами, але інфекціями (ОРЗ, ОРВІ, пневмоцистоз, хламідіоз, нейсерії та ін.), які можуть стати причиною розвитку бронхіальної астми інфекційно-алергійного генезу. Щоб запобігти розвитку таких серйозних ускладнень необхідно регулярно обстежуватися на наявність схованих інфекцій, які передані статевим шляхом.

Набряк Квінке — один із проявів лікарської алергії. Це важка судинна реакція, яка відрізняється від кропивниці поразкою глибоких шарів шкіри, підшкірної клітковини і підслизуватих тканин. Гіршим варіантом розвитку алергійної реакції є анафілактичний шок (від греч. ана - зворотний і philaxis - захист). Ця різка і важка форма алергійної реакції найчастіше виникає у відповідь на прийом ліків або на укуси комах, як правило, бджіл або ос. При анафілактичному шоці виникає раптовий стан сверблячки, за яким негайно випливає ускладнення дихання і шок (викликаний різким зниженням артеріального тиску), слабкий пульс, блідість і рясний піт (іноді спостерігається почервоніння шкіри).

Чотири типи реакцій гіперчутливості за Coombs і Gell:

- | | | |
|---|---|---------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Реакції анафілактичні, атопічні. 2. Реакції цитолітичні, цитотоксичні. 3. Реакції імунних комплексів (гістотоксичні) | } | Гіперчутливість негайного типу |
|---|---|---------------------------------------|

4. Реакції туберкулінового типу.

} Гіперчутливість сповільненого типу

Етапи розвитку анафілактичної реакції

Етапи реакції і механізм	Превентивна терапія
Алерген проникає в організм	Уникнення алергена
Синтез IgE і адсорбція їх на тучних клітинах і базофілах	Гіпосенсибілізація
Алерген зв'язується з двома молекулами IgE на поверхні клітин і настає їх Дегрануляція	Стабілізація тучних клітин (кромоглікати, ізопреналін, метилксантин, кофеїн, теофелін)
Виділення в середовище медіаторів анафілаксії	Антагоністи медіаторів, антигістамінні препарати
Локальні прояви. Сінна лихоманка, Астма, атопічна екзема, кропивниця, харчова алергія.	Інгібітори пізньої стадії. Стероїди, індометацин.

Цитотоксичні реакції спостерігаються при переливанні групонесумісної крові, резус конфлікті та вживанні різних лікарських засобів. До комплексу клітина (антиген) – антитіло приєднується комплемент. Активуючись за класичним шляхом зумовлює лізис клітин (еритроцитів, лейкоцитів тощо) і виділення факторів запалення.

Реакції третього типу - імунотоксичні супроводжуються утворенням імунних комплексів. При тривалому контакті організму з надлишком антигена (персистентна інфекція, при синтезі аутоантитіл проти власних тканин тощо), взаємодія антигену з антитілом приводить до утворення розчинних імунних комплексів-преципітатів, які здатні відкладатись на стінках кровоносних судин і блокувати циркуляцію крові, а це спричиняє порушення трофіки в даній ділянці. Якщо з такими комплексами зв'язуються компоненти комплементу, то утворюються продукти розщеплення C3a і C5a, які є анафілатоксинами. Ці речовини викликають виділення активних біологічних факторів, що зумовлюють місцеве пошкодження тканини і стимулюють запальний процес.

Механізм розвитку гіперчутливості сповільненого типу. Після першого контакту з антигеном зростає кількість сенсibiliзованих CD4 Т-лімфоцитів (Th-1), частина із них - це Т-лімфоцити пам'яті. При повторному попаданні антигену в організм Th-1 хелпери його розпізнають у комплексі з антигеном гістосумісності другого класу на поверхні макрофага, що стимулює їх бласттрансформацію і проліферацію. Активовані Th-1 клітини виділяють значну кількість цитокінів клітинного імунітету:

фактор переносу, мітогенний фактор, фактор, що замінює Т-лімфоцити; фактор, який стимулює Т-лімфоцити; фактор, який стимулює В-лімфоцити, фактор, який пригнічує міграцію макрофагів (МДФ), фактор, який активує макрофаги (МАФ) лімфотоксин, інтерферон та інші.

Практичне завдання

Записати алергени для виявлення сенсibiliзації організму, а також алергени, які використовуються для діагностики інфекційних захворювань.

Підпис викладача _____

ЕКЗАМЕНАЦІЙНІ ПИТАННЯ ДО МОДУЛЮ 1 (залік)

1. Мікробіологія, як фундаментальна наука. Предмет і задачі. Об'єкти вивчення.
2. Значення медичної мікробіології в практичній діяльності лікаря.
3. Історія розвитку мікробіології. Етапи розвитку мікробіології.
4. Корисна і шкідлива діяльність мікроорганізмів. Роль бактерій у кругообігу речовин у природі.
5. Наукова діяльність Л. Пастера. Основні відкриття, їх значення для розвитку мікробіології;
6. Наукова діяльність Р. Коха. Основні відкриття та їх значення для медичної мікробіології.
7. Наукова діяльність І. Мечнікова. Відкриття тканинного і гуморального факторів імунітету (П. Ерліх, Е. Берінг, Е. Ру, А. Іерсен та ін.)
8. Роль вітчизняних вчених у розвитку мікробіології. Роботи Л. С. Ценковського, С. Н. Виноградського, Д. І. Івановського, Н. В. Гамалії, Д. К. Заболотного.
9. Досягнення мікробіологічної науки. Заклади мікробіологічного профілю у нашій країні. Роль сучасних вітчизняних вчених у розвитку мікробіології.
10. Оригінальні методи мікробіологічних досліджень. Принципи темнопольової, фазовоконтрастної, електронної мікроскопії при дослідженні мікробіологічних об'єктів.
11. Барвники, які використовуються в мікробіології. Фарбування за Грамом, механізм. Відмінності у структурі і функціях грампозитивних та грамнегативних бактерій.
12. Основні принципи систематики і класифікації мікроорганізмів. Таксономічні категорії. Критерії виду, клону, популяції, чистої культури, штаму. Бінарна номенклатура.
13. Морфологія, ультраструктура бактеріальної клітини. Хімічний склад бактеріальної клітини.
14. Роль окремих структур бактеріальної клітини для життєдіяльності бактерій і у патогенезі інфекційних захворювань.
15. Особливості мікроорганізмів як живих істот. Принципові відмінності у морфології і структурі еукаріотних та прокаріотних клітин.
16. Організація ядра бактеріальної клітини. Реплікація ДНК у бактеріальній клітині, механізм реплікації, будова геному бактеріальної клітини.
17. Поверхневі структури бактерій: капсула, мікрокапсула. їх значення в процесах життєдіяльності бактеріальної клітини. Будова і хімічний склад капсул. Методи фарбування капсул.
18. Цитоплазма і її включення. Запасні поживні речовини клітини бактерій: волютин, глікоген, гранульоза, ліпопротеїдні тільця, кристалоїдні включення, сірка.
19. Клітинна оболонка. Будова і хімічний склад клітинної оболонки грампозитивних та грамнегативних бактерій. Її значення в процесах життєдіяльності бактерій.
20. Характеристика протопластів, сферопластів і L-форм бактерій. Механізм їх утворення.
21. Рух бактерій. Структура бактеріальних джгутиків. Методи визначення руху бактерій. Характеристика і призначення війок, адгезинів, пілі. Таксис.
22. Загальна характеристика спірохет, риккетсій і актиноміцетів. Таксономічні положення. Спільні ознаки з бактеріальними клітинами.

23. Морфологія грибів (цвільові, дріжджеподібні, дейтеромицети). Будова і структура клітин грибів (мукор, пеніциліум, аспергілус).
24. Тинкторіальні властивості бактерій. Прості і складні методи фарбування. Механізм взаємодії барвників з окремими структурами бактеріальної клітини.
25. Морфологія і структура найпростіших, що викликають захворювання у людини. Загальна характеристика.
26. Спора. Процес спороутворення і його значення для бактерій. Цикл розвитку спороутворюючих бактерій. Характеристика локалізації спор у клітині. Методи фарбування.
27. Таксономія і класифікація вірусів. ДНК-ові та РНК-ові віруси. Хімічний склад віріонів.
28. Морфологія та ультраструктура вірусів. Прості і складні віруси.
29. Поняття про вірус, пріони, віроїди. Методи дослідження віріонів і визначення їх розмірів.
30. Віруси - історичні аспекти. Розбіжності структурної і хімічного складу віріонів від бактерій.
31. Віруси бактерій. Бактеріофаги. Морфологія і структура фагів. Фази взаємодії фага з бактеріальною клітиною.
32. Метаболізм - характеристика конструктивного і енергетичного обмінів. Ферменти і їх роль у обміні речовин. Практичне використання ферментативних властивостей бактерій.
33. Проникнення поживних речовин у бактеріальну клітину. Характеристика голозойного і голофітного способів живлення.
34. Дихання бактерій. Характеристика аеробного і анаеробного типів дихання. Механізм біологічного окислення і відновлення речовин.
35. Характеристика пігментоутворення і його значення для бактеріальних популяцій .
36. Ріст і розмноження бактерій. Крива росту. Фази розмноження бактеріальних популяцій. Клітинний цикл.
37. Основні принципи і методи культивування аеробних і анаеробних бактерій.
38. Поживні середовища і їх класифікація, вимоги до них.
39. Основні принципи культивування патогенних спірохет, найпростіших, риккетсій, хламідій, мікоплазм.
40. Мікроорганізми і фізичні фактори оточуючого середовища. Стерилізація, автоклавування, сублімація. Дія УФ опромінення на мікроорганізми.
41. Методи стерилізації і контроль її якості.
42. Дія хімічних факторів на мікроорганізми. Детергенти, окислювачі, солі важких металів, барвники – механізм дії на бактеріальні клітини.
43. Дезінфекція, асептика, антисептика, дератизація, дезінсекція. Пастеризація. Тіндалізація.
44. Екологія мікроорганізмів. Поширення мікробів у природі.
45. Мікрофлора і імунологія ротової порожнини.
46. Нормальна мікрофлора тіла людини, її роль у фізіологічних процесах і виникненні патології людини. Вікові особливості нормальної мікрофлори носа, шкіри, статевих органів, кишечника. Гнотобіологія. Дисбактеріоз і причини його виникнення.
47. Основні захворювання і збудники ротової порожнини.
48. Пробіотики та еубіотики, їх характеристика, механізм дії.
49. Санітарна мікробіологія, предмет, завдання. Значення санітарної мікробіології в діяльності лікаря.
50. Санітарно-показові мікроорганізми, вимоги до них, їх значення для характеристики об'єктів навколишнього середовища.
51. Вода як середовище проживання і зберігання мікроорганізмів. Автохтонна і алохтонна мікрофлора відкритих водоймищ. Сапробність. Мікроорганізми – показники процесу самоочищення води.
52. Мікрофлора ґрунту. Роль ґрунту у передачі інфекційних захворювань. Фактори, які впливають на виживаність патогенних мікроорганізмів у ґрунті.
53. Мікрофлора повітря, її характеристика. Роль повітря у передачі інфекційних захворювань.

54. Вплив біологічних факторів на мікроорганізми. Антагонізм, мутуалізм, синергізм, сателізм, хижацтво, паразитизм.
55. Екологія мікроорганізмів. Поширення мікробів у природі.
56. Нормальна мікрофлора тіла людини, її роль у фізіологічних процесах і виникненні патології людини. Вікові особливості нормальної мікрофлори носа, шкіри, статевих органів, кишечника. Гнотобіологія. Дисбактеріоз і причини його виникнення.
57. Основні захворювання і збудники ротової порожнини.
58. Пробиотики та еубіотики, їх характеристика, механізм дії.
59. Антибіотики. Історія відкриття антибіотичних сполук. Класифікація антибіотиків за походженням, спектром і механізмом дії. Одиниця дії антибіотиків. Характеристика типів взаємодії антибіотиків з бактеріальними клітинами.
60. Методи визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотичних сполук (якісні і кількісні). Визначення концентрації антибіотиків у крові, сечі.
61. Виникнення і розповсюдження лікарської стійкості бактерій. Механізм антибіотикорезистентності і роль плазмід у резистентності бактерій до лікарських препаратів.
62. Інфекція і інфекційне захворювання. Загальна характеристика мікробного паразитизму.
63. Роль макроорганізму в інфекційному процесі. Значення спадкового фактору. Вплив природних і соціальних факторів життя людини на виникнення, розвиток та наслідки інфекційних хвороб.
64. Біологічний метод дослідження, його застосування для вивчення етіології, патогенезу, діагностики, терапії та профілактики інфекційних хвороб.
65. Патогенність і вірулентність, одиниці виміру, методи визначення, фактори патогенності і агресії.
66. Комплемент, загальна характеристика, шляхи активування комплекменту (класичний, альтернативний).
67. Токсини бактерій. Характеристика екзо, ендо, ентеротоксинів. Механізм дії на організм живих істот. Тропізм токсичних субстанцій бактерій.
68. Умовно-патогенні мікроорганізми. Роль бактеріальних ферментів в патогенезі інфекційних хвороб. Інвазійні властивості патогенних бактерій.
69. Механізм вірусних інфекцій. Персистуючі інфекції. Вірогенія. Умови виникнення.
70. Механізм передачі збудників інфекційних хвороб. Динаміка розвитку інфекційного процесу.
71. Розповсюдження патогенних мікроорганізмів в організмі; бактеріємія, вірусемія, септицемія, септикопемія, токсинемія.
72. Форми прояву інфекцій: гострі, хронічні, вторинні, аутоінфекції, екзо- і ендогенні інфекції.
73. Носійство, реінфекції, суперінфекції, рецидив, реконвалісценція, спорадичність, ендемія, епідемія, пандемія.
74. Шляхи передачі (горизонтальні і вертикальні) інфекційних хвороб. Характеристика вхідних воріт. Навести приклади.
75. Роль макроорганізму, оточуючого середовища і соціальних факторів у виникненні і розвитку інфекційного процесу.
76. Характеристика: DL_m , DL_{50} , інфікуюча доза.
77. Сучасне визначення поняття імунітет. Етапи розвитку імунології як науки. Нобелівські лауреати в галузі імунології, їх внесок у науку.
78. Визначення і загальна характеристика імунітету. Види і форми імунітету.
79. Неспецифічні фактори імунітету. Механізм неспецифічної резистентності. Бактерицидні властивості сироватки крові. Фагоцитоз.
80. Набутий імунітет: активний і пасивний, стерильний і нестерильний. Механізм утворення набутого імунітету.
81. Механізм імунної відповіді. Динаміка імунної відповіді.
82. Антигени. Характеристика будови антигенів. Повноцінні антигени. Гаптени, аутоантигени. Антигенна будова бактеріальної клітини.

83. Антитіла. Класи антитіл, їх будова, методи їх виявлення.
84. Імунологічна пам'ять і імунологічна толерантність.
85. Вроджені і набуті імунодефіцити. Синдром Луї-Бара, імунізаторне гальмування, імунологічний параліч.
86. Аутоімунні процеси. Аутоантитіла. Аутоімунні захворювання.
87. Імунна система організму людини. Імунокомпетентні клітини, їх основні функції.
88. Вікові особливості імунітету.
89. Алергія. Реакції гіперчутливості негайного типу. Анафілаксія. Механізм виникнення анафілактичного шоку. Місцева анафілаксія – феномен Артюса. Пасивна анафілаксія. Десенсибілізація.
90. Сироваткова хвороба, атопія. Хвороби імунних комплексів. Механізм розвитку.
91. Гіперчутливість сповільненого типу. Інфекційна алергія.
92. Реакція аглютинації. Механізм, діагностичне значення. Титр антитіл.
93. Реакція преципітації. Методика постановки, практичне значення.
94. Реакція зв'язування комплементу. Техніка постановки і механізм реакції. Практичне значення.
95. Імунобіологічні препарати. Класифікація вакцин. Вакциноterapia і вакцинопрофілактика. Методи отримання і практичне використання вакцин.
96. Імунні сироватки, класифікація, принципи одержання.
97. Серотерапія і серопротекція. Характеристика антитоксичних, антимікробних і антивірусних сироваток і імуноглобулінів.

САМОСТІЙНА РОБОТА

98. Спадкова мінливість. Мутації, їх різновиди. Мутагени фізичні, хімічні, біологічні. Генетичні рекомбінації: трансформація, трансдукція, кон'югація.
99. Значення генетики у розвитку загальної і медичної мікробіології, вірусології, молекулярної біології. Мікробіологічні основи генної інженерії.
100. Схема одержання генних структур і спадково змінених організмів. Досягнення генної інженерії, використання генноінженерних препаратів у медицині.
101. Генетичні рекомбінації.

МЕДИЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Дата _____

№ _____

Тема: «МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА СТАФІЛОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ»

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика *Staphylococcus spp.*
2. Біологічні властивості стафілококів
3. Антигенна структура та класифікація *Staphylococcus spp.*
4. Мікробіологічна діагностика захворювань, викликаних *Staphylococcus spp.*
5. Епідеміологія та патогенез стафілококових інфекцій.
6. Фактори патогенності та агресії.
7. Особливості імунітету.
8. Принципи профілактики та лікування стафілококових інфекцій.

Стафілококи (*Staphylococcus*) мають кулясту форму, в препаратах з культур розміщуються у вигляді скупчень, що нагадують грона винограду. В мазках із патологічного матеріалу можуть зустрічатися одиночні або парні коки і короткі ланцюжки. Спор і капсул не утворюють, нерухомі, грампозитивні. Факультативні анаероби; хемоорганотрофи із окисним та ферментативним метаболізмом.

Типовий вид - *S. aureus*. Із 27 відомих на сьогодні видів 14 виявлені на шкірі і слизових оболонках людини (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. caritis*) та інші.

До поживних середовищ стафілококи не вибагливі. При рості в м'ясо-пептонному бульйоні утворюють рівномірну каламуть. На МПА виростають колонії опуклі, середніх розмірів, з блискучою поверхнею і рівними краями, білого, золотистого або лимонно-жовтого кольору.

Деякі види стафілококів відзначаються протеолітичною активністю. Вони зброджують глюкозу і мальтозу до кислоти без газу, а вірулентні штами розкладають ще лактозу і манніт. Вірулентні стафілококи продукують екзотоксин, який має гемолітичні, некротичні і летальні властивості. Деякі штами стафілокока виробляють термостабільний ентеротоксин, ферменти плазмокоагулазу і гіалуронідазу, а також фібринолізин і лейкоцидин.

Більшість штамів гноетворного стафілокока піддається типуванню специфічними бактеріофагами. На підставі фаготипування класифікують чотири основні групи стафілококів і ряд типів у кожній групі.

Стафілококи викликають різного роду гнійно-запальні процеси - фурункульоз, флегмони, абсцеси, ангіни, лімфаденіти, сепсис і харчові токсикоінфекції.

Широке розповсюдження стафілококових інфекцій і труднощі лікування, що пов'язані із зростаючою стійкістю мікробів до антибіотиків, привертає велику увагу спеціалістів різного профілю до проблем стафілококових захворювань. Вивчення біологічних властивостей стафілококів і біологічно активних речовин, які вони продукують, лежить в основі уявлень про патогенез захворювань і являється фундаментом, на якому базується діагностика і розробляється схема профілактики і терапії.

З'явилися захворювання незвичайної локалізації, що викликаються стафілококами - пневмонії, ентероколіти, пієліти, ендокардити, після операційні інфекції ран, бактеріємії, інфекції сечовивідних шляхів і інші. Епідеміологічний аналіз стафілококової захворюваності показав, що вона зросла в основному за рахунок внутрілікарняних інфекцій. Первинні захворювання стафілококової етіології залишились приблизно на попередньому рівні, але

збільшилось число вторинних інфекцій, які приєднуються до основних захворювань і ускладнюють їх протікання.

Основна роль у розповсюдженні стафілококових захворювань належить лікарні. Завдяки постійному використанню антибіотиків у лікарнях з'являється більше число вірулентних і стійких до антибіотиків стафілококів, які вражаючи хворих, викликають спалахи і цілі епідемії стафілококових захворювань. Ми знаємо, що хвороботворні штами стафілококу володіють значною біохімічною активністю. Вони розщеплюються з утворенням кислоти, але без газів, ряд вуглеводів виділяють нітрити і нітрати.

Патогенні штами виділяють токсини, які мають ряд властивостей, гемотоксин, лізуючий еритроцити; лейкоцидін, убиваючий лейкоцити; некротоксин, визиваючий некроз тканин; летальний токсин, убиваючий тварин і ентеротоксин, який викликає харчові отруєння.

Стафілококи продукують коагулазу, фібринолізин, лецитиназу, гіалуронідазу, дезоксирибонуклеазу, протеїназу і фосфатазу, які відносять до групи ферментів, що мають агресивні властивості. А такий фермент, як пеніциліназа, хоча і не являється ферментом патогенності, захищає бактеріальні клітини від дії на них антибіотиків, чим дає їм можливість безперешкодно розмножуватись у організмі хворого, який отримує цей лікарський препарат. Крім вище вказаних ознак, ці мікроорганізми мають ще ряд властивостей. До них відносяться бродіння маніту в анаеробних умовах, грудкоутворюючий фактор (ГФ), лізоцим, фосфатаза, телуритредуктаза, желатиназа, протеїназна властивість утворювати ацетилметилкарбінал на середовищі з глюкозою (реакція Фогес-Проскауера), розщеплювати в аеробних умовах мальтозу, лактозу, галактозу, маніт, рибозу, тригалоу. Всі вказані тести (всього 22 ознаки), або розвалюють надійно визначену видову належність стафілококів, або використовуються при біологічному типуванні.

При обстеженні носіїв патогенного стафілококу для виявлення джерел інфекції і шляхів передачі, ведучим методом ідентифікації виділених культур є фаготипування. Порівнюючи культури, що виділені із різних об'єктів можна визначити їх схожість, або відмінність і тим самим підтвердити або заперечити їх походження із єдиного джерела, або передачу від однієї людини до іншої.

Одна із рушійних сил епідемічного процесу - неоднорідність популяції збудника і організму господаря.

Таблиця 1

Загальна характеристика піогенних коків

	Ознаки та властивості мікроорганізмів	Стафілококи	Стрептококи	Пневмококи	Менінгококи	Гонококи
	Морфологічні властивості -форма	Правильна округла	Злегка витягнута, овальна	У вигляді полум'я свічки (ланцетоподібна)	Бобоподібна (форма кавового зерна)	
	розташування	У вигляді грон винограду	Ланцюжком	Парні, диплококи	Диплококи	
	капсулоутворення	Мікрокапсула			Мікрокапсула	
	Тинкторіальні властивості	Гр+			Гр -	

Культуральні властивості (здатність рости на поживних середовищах)	Невибагливі до поживних середовищ	Більш вибагливі до поживних середовищ (цукрові, кров'яні)	Вибагливі до поживних середовищ (сироваткові або кров'яні середовища)	Дуже вибагливі до поживних середовищ: (сироватковий або кров'яний агар з додавання людського білка)	
Тип дихання	Факультативні анаероби			Аероби (невелика кількість CO ₂ стимулює ріст)	
Температурні межі росту	8-43	18-41	28-42	31-40	30-38
	Можуть виживати та рости в оточуючому середовищі			Розмножуються та ростуть у людському організмі	
Біохімічна активність (наявність протеолітичної та цукролітичної активності)	найбільша +++	Висока ++	найменша +	Не мають протеолітичної активності, розщеплюють до кислоти	
				глюкозу та мальтозу	глюкозу
Токсинутворення	Екзо +++	Екзо ++	Екзо +	ендо	
Патогенність для людини	Умовно-патогенні		Патогенні	Патогенні, можливе носійство (1:10)	патогенні

Таблиця 2

Біохімічні властивості представників роду *Staphylococcus*

<i>Ознака</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Ферментація:			
глюкози	+ (К)	+ (К)	+ (К)
лактози	+ (К)	± (К)	± (К)
сахарози	+ (К)	+ (К)	+ (К)
мальтози	+ (К)	+ (К)	+ (К)
маніту	+ (К)	-	± (К)
Відновлення нітратів до нітритів	+	+ (слабо)	-
Розрідження желатину	+	+	+
Утворення H ₂ S	+	+	+
Утворення індолу	-	-	-
Утворення каталази	+	+	+
Утворення плазмокоагулази	+	-	-
Утворення лецитинази	+	-	-
Утворення ДНК-ази	+	-	-
Гемолітична активність	+	± (слабо)	-

Примітка. «+» - наявність ознаки; «-» - відсутність ознаки; «±» - непостійна ознака; «+ (К)» - ферментація до кислоти без газу

Мікробіологічна діагностика стафілококових захворювань

Матеріалом для дослідження служить гній, слиз із зів, кров, жовч, харчові продукти.

Матеріал для дослідження

Гній, мокрота, слиз із носа і зіву,

СМР, фекалії

Бактеріоскопія (грам позитивні коки)

Посів на жовточно-сольовий (агар Чистовича), молочно-сольовий та кров'яний агар

а) бактеріоскопія (грампозитивні коки)

б) посів на скошений агар для виділення чистої культури

в) проба на коагулазу (+)

г) проба на манніт (+)- розкладають

д) позитивна лецитиназна активність

Гній беруть з відкритих вогнищ ураження стерильним ватним тампоном у пробірку. При наявності закритого гнійного вогнища шкірні покриви попередньо обробляють 70⁰ спиртом і стерильним шприцом з товстою голкою беруть гній. Слиз із зіву при ангінах беруть з ліктьової вени в кількості 5-10 мл і засівають біля ліжка хворого у флакон з 50-100 мл цукрового МПБ. Посіви крові вирощують у термостаті при 37⁰.

Етапи дослідження.

Перший етап. З гною і слизу із зіву готують мазки, забарвлюють за Грамом і мікроскопують. Потім матеріал засівають на чашки з кров'яним і м'ясопептонним агаром. Якщо матеріал сильно забруднений сторонньою мікрофлорою, слід використати інгібуючі середовища (сольовий агар або середовище Речменського і Щавелевої). Посіви вирощують протягом доби в термостаті при 37⁰.

Другий етап. Вивчають ріст на чашках і 2-3 ізольовані колонії відсівають на скошений МПА для виділення чистої культури.

Третій етап. Перевіряють чистоту виділеної культури і ідентифікують її. При цьому особливу увагу приділяють визначенню вірулентності стафілококів. З цією метою ставлять реакцію плазмокоагуляції, вивчають здатність стафілококів лізувати еритроцити, ферментувати лактозу і манніт, розріджувати желатину, утворювати летальну отруту - некротоксин, фібринолізин і гіалуронідазу. Найбільш показовими тестами вірулентності стафілокока є здатність викликати коагуляцію цитратної плазми, гемоліз на кров'яних середовищах і виробляти некротоксин.

Патогенез ураження. Факторами патогенності збудника являються мікрокапсула, компоненти клітинної стінки (тейхоеві кислоти, білок А), ферменти - каталаза, ліпаза, коагулаза і токсичні субстанції-ексфоліатини А і В та токсин синдрому токсичного шоку (TSST-1), лейкоцидин, ентеротоксини.

Клінічні прояви.

Інфекції, викликані *S. aureus*, різноманітні і включають більше 100 нозологічних форм. Бактерії здатні вражати практично усі тканини організму людини. Найбільш часто спостерігаються варіабельні враження шкіри та її придатків - від стафілококового імпетигу

(імпетигу Бокхарта) до тяжких фолікулітів, маститів у жінок. Золотистий стафілокок є збудником інфекційних ускладнень хірургічних ран і нозокоміальних пневмоній, інфекцій опорно-рухового апарату (остеомиєліти, артрити). Серед інфекцій *S. aureus* особливе місце займають враження, які обумовлені дією токсинів,- синдром токсичного шоку, "обвареної шкіри", харчові отруєння:

1. Синдром "ошпарених немовлят" (хвороба Ріттера фон Ріттерштейна) спостерігається у новонароджених, інфікованих штамами, які продукують ексфоліати. Захворювання починається раптово; характерним є формування великих осередків еритем на шкірі із подальшим утворенням через 2-3 доби великих пухирів, як при термічних опіках.



2. Синдром "обвареної шкіри" (синдром Лайселла) спостерігається у більш старших дітей і дорослих. Характерні осередки еритем і пухирів, тяжка інтоксикація і відторгнення субепідермального шару.



3. Синдром токсичного шоку. Вперше це явище зареєстроване у 1980 році у жінок 15-25 років, які використовували сорбуючі тампони в період менструації. На теперішній час встановлено, що синдром може розвинутися після родів як ускладнення після хірургічних втручань, особливо в носовій порожнині та пазухах носа.

4. Харчові отруєння клінічно проявляються блюванням, абдомінальними болями і водною діареєю уже через 2-6 годин після вживання в їду інфікованих продуктів, особливо кондитерських виробів із кремом, консервів та овочевих салатів. Вони носять само обмежений характер і прояви зникають або значно ослаблюються через 24 години навіть без лікування.

Лікування. Основа терапевтичних міроприємств - проведення адекватної антимікробної терапії, для чого необхідне дослідження чутливості збудника до різних антибіотиків. Найчастіше використовують метод Кірбі- Бауера або серійних розведень. В тяжких або хронічно протікаючих випадках потрібно застосовувати донорський антистафілококовий імуноглобулін. Важливе значення має епідеміологічне типування штамів бактеріофагами і вивчення плазмідного профілю золотистого стафілокока, який забезпечує стійкість до антибіотиків.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження препарату чистої культури

<i>S. aureus</i>	
Рисунок	

2. Визначення чутливості до антибіотиків (диско-дифузійний метод) чистої культури *S. aureus*, виділеної від хворої людини .

Ступінь чутливості бактерій до антибіотика	Діаметр зони відсутності росту, мм
Високочутливі	більше 25
Чутливі	15 –25
Малочутливі	10 –14
Стійкі	≤10



Чиста культура *S. aureus*

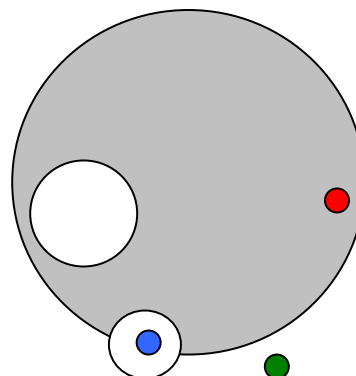


Схема 4

3. Вивчення препаратів для профілактики та лікування стафілококових інфекцій.

Лікувально-профілактичні препарати

Назва препарату	Склад	Мета використання
Стафілококовий анатоксин		
Антистафілококовий гамма-глобулін		
Протистафілококова донорська гіперімунна плазма		
Стафілококовий бактеріофаг таблетований		

Підпис викладача _____

Тема «Мікробіологічна діагностика стрептококових інфекцій»

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика *Streptococcus spp.*
2. Біологічні властивості стрептококів.
3. Антигенна структура та класифікація.
4. Мікробіологічна діагностика захворювань, викликаних *Streptococcus spp.*
5. Епідеміологія та патогенез стрептококових інфекцій.
6. Особливості імунітету.
7. Принципи профілактики та лікування стрептококових інфекцій.
8. Патогенез скарлатини.
9. Ревматизм.
10. Бешиха.
11. Ангіни.
12. Фактори патогенності стрептококів.

Сімейство Streptococcaceae включає 7 родів. Патогенні для людини представники відносяться до родів *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* і *Lactococcus*. Серед них найбільше значення мають стрептококи і ентерококи, тоді як останні викликають спорадичні або рідкі випадки захворювань.

Рід Streptococcus

Стрептококи вперше були виявлені в тканинах людини при рожистому запаленні та інфекціях ран (Більрот, 1874), септицеміях і гнійних враженнях (Пастер, 1879; Огстон, 1881). В чистій культурі їх виділили Фелайзен і Розенбах (1884).

Стрептококи мають кулясту форму, розміщуються ланцюжками, спор і капсул не утворюють, джгутиків не мають, грампозитивні. Деякі види утворюють капсулу. Нерухомі. Хемоорганотрофи. Факультативні анаероби. Ростуть в інтервалі 25-45°. За класифікацією Брауна (1919), яка оснований на особливостях росту на агарі із кров'ю розрізняють такі види стрептококів:

дають частковий гемоліз і позеленіння середовища - альфа стрептококи;

повністю гемолізуючі - бета стрептококи

дають візуально невидимий гемоліз - гамма стрептококи

Основними збудниками хвороб людини є гемолітичні стрептококи, більша частина яких відноситься до серогрупи А. Ці мікроорганізми відомі із глибокої давнини, але свого піку захворюваності досягнули в 19 столітті. На цей період приходяться відомі епідемії скарлатини (ангіна Людвіга). Багато чисельні випадки фарингітів, які в більшості випадків закінчувалися пневмоніями, ревматизмом та гострим гломерулонефритом. Також широко розповсюдилися інфекції шкіри і м'яких тканин - від стрептококового імпетиго до рожі, із фатальним кінцем. Не менш драматична історія післяродового сепсису (родильна гарячка), жертвою якої стали сотні тисяч матерів. Потрібно відмітити, що стрептококові інфекції дають підйом захворюваності і в теперішній час навіть у високо розвинутих країнах - епідемічний спалах у штаті Юта, США в 1985 році, зареєстровані відносно нові форми вражень - стрептококовий токсичний синдром та інше.

Епідеміологія

Стрептококи групи А - убіквітарні мікроорганізми, які часто колонізують шкірні покриви і слизисті оболонки людини. Резервуаром є хвора людина або носій. Основні шляхи передачі - контактний і повітряно-крапельний, а також через інфіковані продукти, які довго зберігалися при кімнатній температурі.

Токсинутворення. Стрептококи утворюють ряд екзотоксинів: стрептолізини - розрушають еритроцити; лейкоцидин - розкладає лейкоцити; еритрогенний (

скарлатинозний) токсин- обумовлює клінічну картину скарлатини- інтоксикацію, судинні реакції, висипи; цитотоксини -мають здатність викликати гломерулонефрит.

Основні фактори патогенності стрептококів

Білок М – головний фактор патогенності, вони являють собою фібрилярні молекули і визначають адгезивні властивості стрептококів, пригнічують фагоцитоз, володіють властивостями суперантигенів.

Капсула. Вона складається із гіалуронової кислоти, яка майже ідентична тій, що входить у склад тканин, тому фагоцити не розпізнають стрептококи, які мають капсулу, як чужерідні антигени.

Еритрогенін- скарлатинозний токсин, який володіє пірогенною, алергенною, імуносупресивною, мітогенною дією, порушує тромбоцити.

Гемолізи (стрептолізин) О порушує еритроцити, володіє цитотоксичною, лейкоцитоксичною і кардіотоксичною дією.

Гемолізи (стрептолізин) S володіє гемолітичною та цитотоксичною дією.

Стрептокіназа – активує фібринолізин крові, підвищує інвазивні властивості стрептококу.

Амінопептидаза- фактор, який пригнічує хемотаксис.

Гіалуронідаза – фактор інвазії.

Фактор помутніння – гідроліз ліпопротеїдів сироватки крові.

Протеази- зумовлюють тканинну токсичність.

ДНК-ази (A,B,C,D)- гідроліз ДНК.

Виражені алергенні властивості стрептококів, які обумовлюють сенсibiliзацію організму.

Патогенез захворювання.

Першим етапом інфекційного процесу є адгезія мікроорганізму до епітелію слизових оболонок. Основним адгезином являється ліпoteйхоева кислота. Другим по значимості фактором вірулентності є капсула, яка захищає стрептококи від антимікробного потенціалу фагоцитів і полегшує адгезію до епітелію. Третім фактором являється С5а-пептидаза. Фермент розщеплює і інактивує компонент комплементу С5а.

Не дивлячись на здатність знижувати активність фагоцитів, стрептококи ініціюють виражену запальну реакцію, яка зумовлена секрецією більше 20 розчинних продуктів (стрептолізини S і O, гіалуронідаза, ДНКазы, НАДазы, стрептокінази. Деякі штами стрептококів продукують кардіогепатичний токсин, який вражає міокард і діафрагму, а також утворення гігантоклітинних гранульом в печінці.

Здатність стрептококів викликати різні захворювання залежить від :

місця вхідних воріт

наявності у стрептококів різних факторів патогенності

стану імунної системи людини

сенсibiliзуючих властивостей стрептококів

гноєрідних і септичних функцій стрептококів

Клінічні прояви.

Фарингіт. Найбільш типовими проявами стрептококового фарингіту є лихоманка, біль у горлі, регіональна лімфаденопатія.

Значення стрептокока в етіології скарлатини. Г.М. Габрічевський вперше довів, що гемолітичний стрептокок є збудником скарлатини. Але так як стрептококи , які були виділені при других захворюваннях, не відрізнялись від збудників скарлатини, то ця думка не всіма однозначно розділялась. На сьогодні встановлено, що скарлатину викликають стрептококи групи А, які виробляють еритрогенний токсин.

Скарлатина – гостре інфекційне захворювання, яке характеризується появою шкірних висипів, мілких плям червоного кольору спочатку на шиї і верхній частині грудної клітини, поступово переходячи в генералізовану форму.



Цікавою клінічною особливістю є еритема язика - симптом "малинового язика".



Збудниками скарлатини є бета-гемолітичні стрептококи групи А. Зараження в основному проходить повітряно-крапельним шляхом, однак вхідними воротами можуть бути любі рани. Інкубаційний період складає 3-7-11 днів.

Патогенез скарлатини включає такі 3 періоди:

Дія скарлатинозного токсину, який обумовлює розвиток токсикозу. Вражаються кровоносні судини, з'являється мілкий яскраво-червоний висип, підвищується температура, в крові іде значне накопичення антитоксинів.

Дія самого стрептококу проявляється не специфічно - у розвитку різних гнійно-септичних процесів (отитів, лімфаденітів, нефритів).

Сенсибілізація організму – проявляється у виникненні різних ускладнень-поліартритів, серцево-судинних захворювань на 2-3 тиждень хвороби.

Внаслідок перенесеного захворювання виникає стійкий, довготривалий, постінфекційний імунітет і визначається за допомогою постановки реакції Діка - підшкірним введенням еритрогенного токсину. У здорових людей, які не хворіли, навкруг місця введення виникає гіперемія і набряк, що характеризується як позитивна реакція (відсутність антитоксину у сироватці крові). У перехворілих людей така реакція відсутня, так як антитоксин, що утворився у них в організмі нейтралізує еритрогенний токсин.

В типових випадках клінічної картини скарлатини лабораторна діагностика не проводиться.

Основним проявом шкірних інфекцій, викликаних стрептококами групи А є целюліти, рожисті запалення і піодермія -імпетиго (імпетиго Фокса).

Нещодавно виділений в окрему нозологічну форму стрептококовий синдром

токсичного шоку. Він розвивається як ускладнення целюлітів, фасцитів та бактеріємій і смертність при цьому сягає 30%. Як ускладнення назофарингеальної інфекції у деяких людей може розвинути гостра ревматична лихоманка, яка супроводжується різними проявами : гострим мігруючим поліартритом, хореею Сіденхема, підшкірними вузликами на кісткових виступах, ендокардитами із рубцевими змінами клапанів, міокардитами. Найбільш серйозним ускладненням є гостра серцева недостатність та приєднання вторинних інфекцій (септичний ендокардит)

Значення стрептококів в етіології ревмокардиту. Патогенез ревмокардитів вивчений недостатньо. Але на користь ролі стрептокока в розвитку цього захворювання є багато фактів:

1. У хворих ревмокардитом із зівя висівають - гемолітичний стрептокок.

2. Ревматизм часто виникає після перенесеної ангіни, тонзилітів, фарингітів, які сенсibiliзують організм.

У сироватці хворих людей знаходять антистрептолізин, антистрептогіалуронідазу - антитіла до стрептококових ферментів, токсинів.

Від таких хворих часто виділяють стрептококи або їх L-форми і антигени в крові.

В останній час у виникненні хронічних форм ревмокардиту надають значення L- формам стрептокока.

Стрептококи групи В колонізують носоглотку, шлунково-кишковий тракт і піхву. Значна частина ізолятів ідентифікована як *S. agalactiae*. Серологічно стрептококи групи В розділяють на серовари 1a, 1b, 1c, 2 і 3. Бактерії сероварів 1a і 3 тропні до тканин ЦНС і дихальних шляхів, найбільш часто викликають менінгіти у новонароджених. Вертикальний шлях зараження, це проходження плоду по родових шляхах, інфікованих стрептококами. Горизонтальну передачу збудника спостерігають набагато рідше.

Стрептококи групи В викликають різноманітні враження людини і більшість із них проникає у кров'яне русло. Особливо необхідно відмітити стрептококові пневмонії, які розвиваються на фоні респіраторних вірусних інфекцій.

Лабораторна діагностика аналогічна підходам до виділення стрептококів групи А.

Лабораторна діагностика.

" Золотим стандартом " вважається виділення чистої культури збудника.

Матеріал для дослідження

Гній, кров, слиз із носа, зіву, мокрота, вміст везикул, пустул, секційний матеріал

Бактеріоскопія

Посів на кров'яний, цукровий, сироватковий агар та середовище ДІФ-3

Бактеріоскопія

Пересів підозрілих колоній на косий агар

Тести : проба на каталазу негативна

визначення гіалуронідазної активності (+, -)

фібринолізин (+)

гемоліз (+)

Перший етап. При підозрі на сепсис біля ліжка хворого засівають кров у співвідношенні 1: 10 в цукровий бульйон і в середовище Кітта- Тароцці. Гній та слиз із зівя спочатку мікроскопують і засівають на чашки з кров'яним агаром і в пробірку із цукровим бульйоном. Матеріал, забруднений сторонньою мікрофлорою, засівають на інгібуюче середовище Гарро.

Другий етап. На другу добу проводять облік росту на кров'яному агарі і ізольовані дрібні колонії відсівають у пробірки з МПБ для виділення чистої культури.

Третій етап. Відмічають характер росту в цукровому бульйоні, перевіряють

чистоту виділеної культури і ідентифікують її за біологічними властивостями і антигенною структурою. Вірулентність стрептококів перевіряють на білих мишах. Внутрішньо-черевинно тваринам вводять 0,2 мл суспензії мікробів. Вірулентні штами викликають загибель мишей через 3 доби.

Для серологічної ідентифікації стрептококів використовують реакцію аглютинації на склі за Гриффітсом або реакцію преципітації за Ленсфільдом.

Негемолітичні стрептококи складають гетерогенну групу бактерій, які дають неповний гемоліз. Оскільки вони викликають позеленіння кров'яних середовищ, то їх також називають зеленими стрептококи. Ці бактерії входять у склад мікробних ценозів ротової порожнини, але здатні викликати інфекційний процес при попаданні в стерильні зони.

Патогенез та клінічні прояви. Не гемолітичні стрептококи – низько вірулентні бактерії і тому вважаються опортуністами. Найбільший процент захворювань складають бактеріальні ендокардити, які розвиваються після проникнення бактерій в кровообіг при травмі слизових оболонок (наприклад, після чищення зубів, пережовування твердої їжі). Потрібно відмітити, що ендокардити, які викликаються зеленуватими стрептококами, носять злоякісний характер і супроводжуються враженням серцевих клапанів (табл.3).

Основні негемолітичні стрептококи, які мають медичне значення.

Вид	Область персистенції	Захворювання
<i>S. anginosus</i>	Ротова порожнина, кишечник, піхва	Абсцеси, артрити, сепсис
<i>S. bovis</i>	Кишечник	Бактеріємії, ендокардити
<i>S. mutans</i>	Ротова порожнина	Ендокардити, карієс
<i>S. salivarius</i>	Ротова порожнина	Ендокардити, карієс

Другою по значимості, але незрівнянно більш частою патологією є каріозне враження зубів, яке викликається зеленуватими стрептококами біогрупи *mutans*. Ці бактерії мають поверхневий білок, який зв'язує глікопротеїни слюни на поверхні зубів і разом з іншими бактеріями утворює бляшки на зубах. Вони перетворюють сахарозу, яка поступає із їжею, в молочну кислоту і викликають демінералізацію емалі зубів.

Лабораторна діагностика включає виділення збудника по стандартній схемі, а на його наявність вказує поява гемолізуючих і негемолізуючих колоній. Подальше диференціювання проводять по відсутності здатності рости на рідких середовищах із 6,5 % NaCl, нездатності гідролізувати ескулін в присутності солей жовчних кислот та відсутності чутливості до оптохіну.

Лікування принципово не відрізняється від терапії, яка проводиться при інших стрептококових інфекціях.

Пневмококи

S. pneumoniae (пневмокок) вперше був виділений Пастером у 1881 році під час роботи над антирабійною вакциною, а етіологічну роль у розвитку пневмоній у людини доказали Френкель і Вайхзельбаум у 1884 р. Пневмокок - один із основних збудників бактеріальних пневмоній. Щорічно у світі реєструють більш як 500 000 випадків пневмококових пневмоній. Найбільш схильні до інфекції діти та люди похилого віку. Резервуаром інфекції є хворі та носії. Основний шлях передачі - контактний та повітряно-крапельний. Пік захворюваності припадає на холодну пору року. В більшості випадків клінічні форми інфекції розвиваються при порушенні резистентності організму або на фоні іншої патології (серповидноклітинної анемії, хвороби Ходжкіна, ВІЛ-інфекції, мієломи, цукрового діабету та при алкоголізмі).

Морфологія та культуральні властивості.

Овальні або ланцетовидні коки діаметром біля 1мкм. В мазках із клінічного матеріалу розміщені парами, кожна із яких має товсту капсулу. Нерухомі, спор не утворюють.

Аероби або факультативні анаероби. Добре ростуть на кров'яних або сироваткових середовищах, доповнених 0,1 % глюкозою. Температурний оптимум -37°.

Патогенез більшості пневмоній включає аспірацію слюни, яка містить *S. pneumoniae* і проникнення бактерій в нижні відділи повітряноносних шляхів. Основний фактор вірулентності - капсула, як типоспецифічний антиген диференціює пневмококи на серовари, захищає бактерії від мікробного потенціалу фагоцитів. Не капсульовані штами практично авірулентні і зустрічаються дуже рідко. Важливе значення має субстанція С - холінвміщуюча тейхоева кислота клітинної стінки, яка взаємодіє із С-реактивним білком.

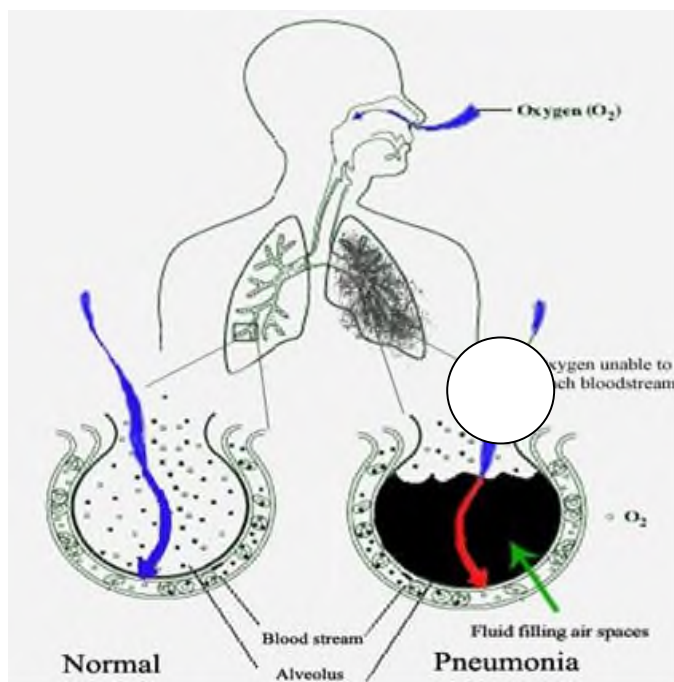
Фактори патогенності. Пневмококи продукують гіалуронідазу, фібринолізин.

Токсинутворення. Пневмококи утворюють ендотоксин, гемолізін, лейкоцидин. Вірулентність даної групи бактерій пов'язана із наявністю в капсулі антифагіну.

Джерелом інфекції є хвора людина та бактеріоносії.

Шляхи передачі. Повітряно- крапельний, повітряно- пороховий.

Клінічні прояви. Класична пневмококова пневмонія починається раптово. Відмічають підвищення температури тіла, сильний кашель і болі в грудях.



В усіх вікових групах реєструють стрептококові менінгіти, які характеризуються швидким підйомом температури тіла, ригідністю шийних м'язів, головними болями, тошнотою і блюванням. Враження судин мозкових оболонок часто протікає із втратою свідомості, а летальність сягає 80 %.

Лабораторна діагностика.

Матеріалом для дослідження служить харкотиння, гній, спинномозкова рідина, кров, сеча, запальний ексудат, органи трупа. Матеріал збирають у стерильний посуд і зразу доставляють в лабораторію. Дослідження потрібно проводити не пізніше 2 годин із моменту взяття матеріалу при умові зберігання його на холоді.

Рідкий матеріал центрифугують і готують мазки із осаду. При дослідженні гною і харкотиння мазки готують без попередньої обробки матеріалу. З органів трупа досліджують мазки-відбитки. Мазки фарбують по Граму або лужною метиленовою синькою і мікроскопують.

Перший етап. При дослідженні забрудненого матеріалу з метою виділення чистої культури заражають внутрішньочеревинно білих мишей. Матеріал, не забруднений сторонньою мікрофлорою, можна зразу засівати в сироватковий або асцитний бульйон

подвійної концентрації і на чашки із кров'яним агаром. При підозрі на сепсис 10 мл крові засівають в 100 мл сироваткового бульйону подвійної концентрації.

Другий етап. Через 8-12 годин спостерігається загибель білих мишей, заражених матеріалом, який містить вірулентні пневмококи. В мазках-відбитках з органів загиблих мишей виявляють типові пневмококи, оточені капсулою. В цьому випадку на підставі самої лише мікроскопії можна дати попередньо позитивну відповідь.

Третій етап. Перевіряють чистоту виділеної культури в мазках, забарвлених за Грамом. На поживних середовищах пневмокок втрачає капсулу, коки розміщуються короткими і довгими ланцюжками. Одержану чисту культуру ідентифікують і диференціюють із зеленим та гемолітичним стрептококом. На відміну від стрептококів, усі типи пневмококів лізуються жовцю - дезоксихолатна проба, розкладають інουλін і високочутливі до оптохіну - припиняється їх ріст.

Лікування. Хіміотерапію проводять антибіотиками, до яких виявлена чутливість мікроорганізмів-левоміцетином, цетриаксоном, ванкоміцином, рифампіцином та ін. Для профілактики пневмококових інфекцій розроблена полівалентна вакцина, яка включає 23 різних полісахаридних антигени сероварів, що викликають 90 % гематогенних інфекцій. Імунізація показана групам підвищеного ризику і проводиться два рази із 5-10 річним інтервалом.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження мікропрепаратів.

<i>Чиста культура Streptococcus pyogenes, фарбування за методом Грама</i>	<i>Streptococcus pneumoniae у мазку-відбитку, фарбування за методом Буррі-Гінса</i>	<i>Streptococcus pyogenes у препараті з плевральної рідини, фарбування за методом Грама</i>
Рисунок		
Тинкторіальні та морфологічні властивості		

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «Мікробіологічна діагностика менінгококових та гонококових інфекцій» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика бактерій родини *Neisseriaceae*.
2. Біологічні властивості нейсерій, антигенна структура та класифікація.
3. Мікробіологічна діагностика захворювань, викликаних *Neisseria spp.*
4. Епідеміологія та патогенез менінгококових та гонококових інфекцій. Особливості імунітету.
5. Принципи профілактики та лікування захворювань, викликаних менінгококами та гонококами.

Грамотрикативні коки відносяться до родини *Neisseriaceae*, названої на честь А.

Нейсера, який вперше виявив у 1879 році збудника гонореї.

До родини Neisseriaceae на сьогодні віднесено 4 роди: Neisseria, Moraxella, Acinetobacter, Kingella. Рід Neisseria включає 14 видів, у тому числі і 2 патогенних – *N. meningitidis* – збудник менінгококових інфекцій, *N. gonorrhoeae* – збудник гонореї. Решта представників цього роду є сапрофітами слизової оболонки верхніх дихальних шляхів людини. Три роди родини Neisseriaceae (Moraxella, Acinetobacter, Kingella) містять види як не патогенних, так і потенційно небезпечних для людини бактерій. За останні роки все частіше спостерігаються гнійно-запальні захворювання - ангіни, менінгіти, отіти, кон'юнктивіти, збудниками яких є бактерії родів *Moraxella*, *Acinetobacter*.

N. gonorrhoeae – збудник гонореї

Гонорея - інфекційне венеричне захворювання з запальними проявами сечостатевих шляхів відкрив Нейсер в 1879 році. Перші культури отримали Лейстков і Леффлер (1882), етіологічну роль довів Бумм (1885). Термін " гонорея " ввів Гален у другому столітті нашої ери.

Гонококи - це парні коки, які складаються із двох бобовидних коків. Поліморфні, нерухомі, не мають спор та утворюють капсулу. Грамвід'ємні. Під впливом лікарських речовин відразу змінюється : з'являються позитивні форми.



Культивування. Менінгококи - аероби. Вони вимогливі до поживних середовищ, розмножуються і ростуть тільки на середовищах, які містять нативний білок (сироватку, кров) при 36-37 °. При 25° ріст призупиняється.

На щільних поживних середовищах менінгококи невеликі в діаметрі, ніжні, напівпрозорі, голубуваті колонії в S- формі.

Ферментативні властивості. Біохімічно гонококи мало активні. Вони розкладають глюкозу із утворенням кислоти. Протеолітичні властивості у них не виражені. Патогенність гонококів обумовлює:

- наявність капсули, яка є перешкодою для фагоцитозу ;
- пілі сприяють прикріпленню мікроба до поверхні епітеліальних клітин ;
- 3) утворення ферментів - гіалуронідази і нейрамінідази.

Токсинутворення.

При розрушенні бактеріальних клітин вивільняється сильний термостійкий ендотоксин, який є ліпополісахаридом клітинної стінки. При захворюванні він виявляється в крові і в спинномозковій рідині хворих. Важкість захворювання часто залежить від кількості накопленого токсину.

Антигенна будова.

N.gonorrhoeae мало вивчена, вона неоднорідна і міняється у дочірніх популяціях. Очевидно, що експресія деяких антигенів гонокока залежить від зміни умов навколишнього середовища. Ще гонококи мають ряд механізмів, які понижують ефективність імунних реакцій, в тому числі і за рахунок зміни антигенної структури. **Джерела інфекції.** Хвора людина і бактеріоносії. **Шляхи передачі.** Основний шлях контактно-побутовий (статевий), дуже рідко через заражені предмети. **Захворювання у людини :** Гонорея і бленорея.

Патогенез гонореї включає комплекс взаємодії бактеріальних факторів патогенності із імунною системою людини. Слід відмітити, що попадання гонококів в організм не завжди призводить до розвитку захворювання, тому що важливе значення мають вірулентність збудника, інфекційна доза, місто проникнення, функціональний стан факторів неспецифічної резистентності і швидкість розвитку імунних реакцій. Вхідними воротами для збудника служить циліндричний епітелій уретри, шийки матки, кон'юнктиви та прямої кишки.

Локалізація і види гонококової інфекції

Інфекції нижніх відділів сечостатевого тракту

Цервіцит

Уретрит (у чоловіків і жінок)

Абсцеси залоз, які прилягають до піхви

Інфекції верхніх відділів сечостатевого тракту

Ендометрит

Епідидеміт

Запальні захворювання тазових органів (запалення фалопієвих труб, яєчників і тканин придатків

Інфекції інших органів і тканин

Проктит (ректальна гонорея)

Фарингіт

Бленнорея

Тазовий перитоніт і перегепатит (Синдром ФіцХью- Кьортиса)

Фарінгеальна гонорея (як правило протікає безсимптомно і важко піддається лікуванню).

Дисемінована гонококова інфекція

Синдром дерматиту-артриту-тендосиновіту (лихоманка, поліартрит і шкірні враження у вигляді геморагічних папул і пустул, викликаних імунними комплексами або гонококами)

Септичний моноартикулярний артрит

В патогенезі дисемінованої гонококової інфекції суттєву роль відіграє стать хворого. Жінки більш схильні до безсимптомних захворювань, тому лікування не проводиться, і це робить жінок основними носіями інфекції. У чоловіків безсимптомні захворювання зустрічаються дуже рідко.

Після перенесеного захворювання імунітет до вторинних заражень не виробляється, вроджене несприйняття відсутнє, можливі супер- і реінфекції. Єдиний чутливий організм- людина. Тварини резистентні до гонококів. Фагоцитарні реакції при гонореї носять незавершений характер.

Лабораторна діагностика.

Основні методи дослідження : мікроскопічний, мікробіологічний і серологічний. Виділення збудника проводять по стандартній схемі. Але є певні відмінності в проведенні бактеріологічної діагностики і виділення збудника у чоловіків і жінок.

Діагностика гонореї у чоловіків.

Бактеріоскопічна діагностика основана на наявності 3 ознак - характерній морфології, внутріклітинному розміщенні бактерій і фарбуванню по Граму. Критерієм правильного фарбування вважають наявність незабарвлених участків у місцях найбільшої товщини мазка. При фарбуванні по Граму мазків із уретри як правило знаходять грамнегативні парні коки, розміщені внутріклітинно (характерна ознака гонореї). Але в дослідному матеріалі можна виявити грамнегативні коки роду *Veillonella*, які нагадують гонококи.

Результати залежать від дотримання правил забору із передньої уретри і простати. Для цього рекомендується за 2-3 доби не застосовувати дезінфікуючі та антибактеріальні препарати, затримати сечовиділення на 4-6 годин і провести туалет навколишніх шкірних покривів. Відбір матеріалу повинен взяти лікар.

Інкубацію посівів рекомендовано проводити при підвищеному вмісті CO₂(до20%). Характерна ознака *N. gonorrhoeae* - оксидазо-позитивні колонії грамнегативних диплококів, що при відповідних клінічних ознаках дозволяє діагностувати гонорею. Підтверджують діагноз результати визначення ферментативного розщеплення **глюкози**, але не мальтози і сахарози. До найбільш специфічних і швидких методів ідентифікації слід віднести імунофлюорисцентні методи із використанням флюорисцентної антисироватки і фарбування акридиновим оранжевим.

У чоловіків - гомосексуалістів матеріал для посіву і бактеріоскопії необхідно брати також із ротової порожнини, глотки і прямої кишки.

Діагностика гонореї у жінок. Фарбування мазків по Граму не завжди дає позитивний результат. У молодих жінок із піурією (більше 10³ нейтрофілів у полі зору при відсутності іншої патогенної мікрофлори) необхідно виключити гонококову етіологію захворювання.

Для виділення культури проводять посів матеріалу із шийки матки, уретри, піхви, прямої кишки і глотки. *Neisseria gonorrhoeae* часто виділяють при безсимптомному носійстві із прямої кишки у жінок і чоловіків- гомосексуалістів.

Виділення збудника проводять по стандартній схемі.

Серологічні дослідження не знайшли широкого застосування. Серотипування штамів збудника, виділених від жертви сексуального нападу і звинуваченого, використовують в судово- медичній практиці для доказів згвалтування. В діагностичних цілях деколи проводять реакцію Борде- Жангу (РЗК) по стандартній схемі, яка буває позитивною із 3-4 тижня хвороби.

Neisseria meningitidis.

Збудник менінгококової інфекції із характерним враженням оболонки носоглотки із і подальшою генералізацією у вигляді менінгококової септицемії і запаленням м'яких мозкових оболонок. Вперше описав клінічну картину менінгококового менінгіту у 17 ст. Уїлліс і Сіденхем. Виділив збудника в самостійну нозологічну форму у 1887 р. Вайзельбаум, а класичний опис морфології зробив Флекснер у 1907 р. На сьогодні менінгококову інфекцію визначають як суворий антропоноз із повітряно-крапельним шляхом передачі збудника. Захворювання носить характер епідемій із високою контагіозністю і летальністю (до 85 % без лікування).

Морфологічні, культуральні і біохімічні властивості, виключаючи ферментацію мальтози із утворенням кислоти , аналогічні таким же у *N. gonorrhoeae*. Розглядаючи фактори патогенності, слід відзначити, що капсула менінгококів має більший розмір і більш складну будову. Крім того, вони продукують гемолізін.

Менінгококи характеризуються високою потребою в ростових факторах. В якості джерела вуглецю і азоту вони використовують амінокислоти (глутамін, аспарагін, тірозин).Селективним середовищем є середовище Мюллера - Хінтона.

На відміну від інших коків цієї групи менінгококи дуже погано переносять низьку температуру. Тому при доставці матеріалу в лабораторію необхідно виключити можливість його охолодження.

Джерела інфекції. Хвора людина і бактеріоносії.

Шляхи передачі. Основний шлях - повітряно- крапельний.

Захворювання у людини : назофарингіт, менінгокококцемія, цереброспинальний епідемічний менінгіт.

Епідеміологія. Епідемічні захворювання, деколи навіть у вигляді великих спалахів, спостерігаються в великих колективах у людей 20-30 років, що обумовлено в значній мірі соціальними факторами (період навчання, проживання у гуртожитках, служба в армії).Природний резервуар менінгокока - носоглотка людини.

Менінгококова інфекція дуже широко розповсюджена, але класичний регіон епідемічних вражень- Центральна Екваторіальна Африка, починаючи від Гвінейського заливу, так називається "менінгітний пояс ". Занос збудника на території, де захворювання не було раніше зареєстроване , наприклад, регіон Крайньої Півночі , приводить до

збільшення генералізованих форм, які вражають всі вікові групи.

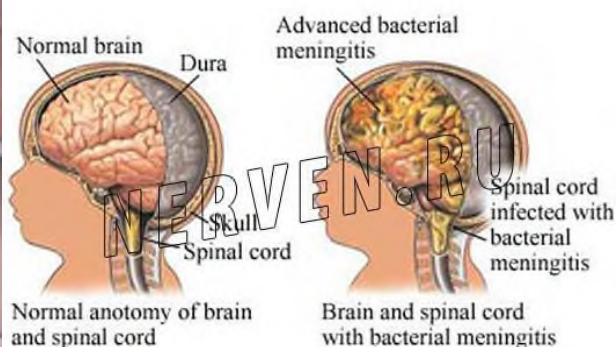
Спорадичні менінгококові захворювання спостерігають, як правило, зимою і навесні, особливо часто із лютого по квітень.

Антигенний склад *N. meningitidis* досить складний, деякі складові компоненти відносять до факторів вірулентності, інші індукують вироблення захисних антитіл.

Класифікація менінгококів основана на різниці у будові полісахаридів капсули. Полісахариди представлені полімерами аміносахарів і сіалових кислот. За допомогою специфічних антитіл сироватки крові кролика до антигенів капсули виділяють серогрупи А, В, С, D, X, J, Z, 29E, W-135, а також порівняно недавно виділені Н, І, К, і L.

Патогенез. Вхідні ворота інфекції - носоглотка. У більшості випадків захворювання протікає субклінічно. Запальний процес у місці проникнення (гострий фарингіт) супроводжується гіперемією і набряком задньої стінки глотки на фоні майже незмінних мигдаликів. Основний шлях розповсюдження в організмі - гематогенний. Патогенез захворювання включає враження токсичного та септичного характеру разом із алергічними реакціями.

Основний фактор патогенності - бактеріальна капсула, яка захищає менінгококи від різних факторів, і в першу чергу від дії фагоцитів. Антитіла, що утворюються до полісахаридів капсули, проявляють бактерицидні властивості. Токсичні прояви менінгокової інфекції обумовлені ліпополісахаридами, які подібні по своїх біологічних і хімічних властивостях до ендотоксинів ентеробактерій. Їм належить основна роль у патогенезі вражень судин і крововиливів у внутрішні органи. Найбільш постійною і значимою ознакою менінгококоцемії -екзантема у вигляді характерного геморагічного висипу (петихії, пурпура, екхімози).



Пілі являються фактором адгезії до слизових оболонок носоглотки і тканин мозкової оболонки. Менінгококи виділяють IgA- протеази, які захищають бактерії від дії імуноглобулінів.

Причини і фактори ризику

Дане захворювання здатні викликати такі мікроорганізми:

- віруси і гриби;
- **менінгококи;**
- пневмококи;
- стрептококи групи В.

Шляхи передачі реактивного менінгіту:

- контактний;
- повітряно-краплинний;
- лімфогенний;
- гематогенний;
- периневральний;
- трансплацентарний.

Через повітряно-краплинного способу передачі менінгіт може спровокувати епідеміологічну ситуацію в дитячих колективах.

Коли збудник менінгіту потрапляє в організм, він викликає запалення мозкових оболонок і тканин. Згодом виникає набряк мозку, що викликає порушення мікроциркуляції в мозкових судинах, зменшення виділення і всмоктування спинно-мозкової рідини.

Це призводить до швидкого підвищення внутрішньочерепного тиску, що утворюється гідроцефалія (водянка мозку).

Наступний етап – поширення запалення на речовину мозку, черепні і спинно-мозкові нерви.

Провокуючі фактори

Розвитку такої хвороби як реактивний менінгіт сприяють наступні фактори:

- нещодавно перенесені запальні захворювання (отит, ендокардит, пневмонія, пієлонефрит тощо), т. к. менінгіт іноді виникає як ускладнення після подібних хвороб;
- Черепно-мозкові травми;
- травми спини;
- фурункули на шиї і на обличчі;
- хронічні захворювання.

Часто реактивний менінгіт вражає недоношених новонароджених дітей.

Симптоми реактивного менінгіту



Основними ознаками реактивної форми менінгіту є:

- підвищення температури до 40 градусів; На початковому етапі хвороби температура добре збивається жарознижувальними засобами. Але через кілька годин відбувається повторне різке підвищення температури, при якому ці кошти вже абсолютно неефективні.
- головний біль; Починається розпираючий головний біль, яка стає більш інтенсивним при русі або шумі. Хоча посилювати біль може і яскраве світло.
- порушення свідомості; Спочатку хворий стає збудженою, неспокійним. Потім настає сплутаність свідомості, яка змінюється станом прострації і комою.
- зміна кольору шкіри; Шкірні покриви набувають сірий, землистий відтінок. Для шкіри кистей і стоп характерний попелястий колір.
- висип; На початкових етапах хвороби висип проявляється у вигляді плям. З часом вона стає геморагічною. Елементи висипу нагадують «чорнильні бризки» різних розмірів: від точкових до великих. Висипки розташовані на тулубі, сідницях, ногах і біля великих суглобів (плечовий, ліктювий, тазостегновий, колінний).
- м'язові болі; У дітей вони нерідко супроводжуються судомами.
- блювання; Рясна блювота з'являється практично відразу. Вона багаторазово повторюється і не пов'язана з тим, скільки людина їв і в якій кількості.
- характерна поза; Щоб полегшити свій стан, хворий сильно закидає голову назад, а зігнуті в колінах ноги притискає до живота. Це положення називають позою «лягавої собаки».
- почастішання серцевого ритму;
- озноб;
- зниження артеріального тиску;

- болю в горлі;
- задишка;
- затвердіння шийних і потиличних м'язів;
- зменшення кількості сечі;
- підвищення внутрішньочерепного тиску;
- у дітей важливою ознакою є вибухання великого тім'ячка.



Одним з не менш небезпечних видів менінгіту є туберкульозний менінгіт.

Діагностика захворювання

Існують наступні способи виявлення реактивного менінгіту:

- люмбальна (поперекова) пункція; За допомогою цієї пункції отримують для аналізу спинно-мозкову рідину, в якій будуть шукати ймовірного збудника захворювання.
- клінічний аналіз крові; Аналіз покаже збільшену ШОЕ і зросла кількість лейкоцитів.
- клінічний аналіз сечі; Сеча темного кольору, в ній знаходять білок і формені елементи крові, огляд очного дна; комп'ютерна томографія; електроенцефалографія; рентгенографія черепа.

Ускладнення і прогноз

- ДВЗ – синдром (формування в судинах кров'яних згустків); При розвитку цього синдрому елементи висипки зливаються у великі плями, на пальцях кистей і стоп починається гангрена, виявляються скупчення крові в слизовій рота, склер.
- гіпонатріємія (зниження кількості натрію в крові);
- затримка нервово-психічного розвитку у дітей;
- параліч; глухота; септичний шок.

Імунітет - постінфекційний, напружений.

Лабораторна діагностика менінгококових захворювань оснований на бактеріоскопії, виділенні чистої культури і біохімічній ідентифікації *Neisseria meningitidis*.

Матеріалом для дослідження служить спинномозкова рідина, кров і виділення із носоглотки. Відбір матеріалу бажано проводити до початку антибактеріальної терапії.

У пофарбованих мазках по Граму виявляють грамвід'ємні одиночні коки або диплококи. Разом із неврологічною симптоматикою це вказує на менінгококову етіологію захворювання. Посів матеріалу для отримання чистої культури проводять на щільні і рідкі поживні середовища, які містять сироватку, кров або асцитну рідину. Оксидазо-позитивні колонії розглядають як такі, що відносяться до виду нейсерій. Наявність в культурі *N. meningitidis* підтверджують утворенням оцтової кислоти при ферментації глюкози і мальтози (але не лактози, сахарози і фруктози).

Лікування. Препарат вибору - бензилпеніцилін, а також ефективні напівсинтетичні пеніциліни -ампіцилін, оксацилін. Найбільш оптимальним є призначення антибіотиків разом із діуретиками. При непереносимості пеніциліну назначають левоміцитин або рифампіцин.

Профілактика зводиться до раннього виявлення носіїв, ізоляції людей, які захворіли назофарингітом та їх госпіталізації.

Специфічна профілактика. Розроблена хімічна вакцина, яка складається із полісахаридів серогруп А і С. Для екстренної профілактики використовують іммуноглобулін.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів.

Мазок з гноєм із уретри, фарбування за методом Грама	<i>Neisseria meningitides</i> у спинно-мозковій рідині, фарбування за методом Грама
Рисунок	

2. Вивчення препаратів для профілактики та лікування менінгококових та гонококових інфекцій.

Лікувально-профілактичні препарати		
Назва препарату	Склад	Мета використання
Хімічна менінгококова вакцина		
Гоновакцина		
Діагностичні препарати		
Назва препарату	Склад	Мета використання
Гонококовий антиген		
Комплемент		
Гемолітична сироватка		

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ЕШЕРИХІОЗІВ» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика бактерій родини *Enterobacteriaceae*.
2. Біологічні властивості *E. coli*.

3. Антигенна структура та класифікація патогенних кишкових паличок.
4. Мікробіологічна діагностика кишкового та парентерального ешерихіозів.
5. Епідеміологія та патогенез діареєгенного та парентерального ешерихіозів. Особливості імунітету при ешерихіозах.
6. Принципи профілактики та лікування ешерихіозів.

Кишкова паличка являє собою паличковидну бактерію, населяючи нижню частину кишечника людини і тварини. Вони не тільки нешкідливі, але і приносять певну користь господарю - беруть участь в синтезі вітаміну К і вітамінів групи В, підтримують нормальну мікрофлору в ШКТ, створюючи умови для життєдіяльності біфідо - і лактобактерій. Однак при певних обставинах і в певному середовищі схильні до активного розмноження патогенні різновиди кишкової палички. Більш того, нешкідлива для людини кишкова паличка залишається нешкідливою лише в межах кишечника. Потрапляючи в інші системи організму, наприклад, у піхві, передміхурову залозу, черевну порожнину вона може стати причиною, відповідно, вагініту, простатиту, перитоніту. Найпоширеніший механізм зараження кишковою паличкою - фекально-оральний, пов'язаний з недотриманням елементарних гігієнічних правил

Деякі штами кишкової палички (мешкають переважно у зовнішньому середовищі) можуть стати причиною шлунково-кишкових розладів, менінгіту та різних інфекційних запальних процесів (пневмонія, сепсис тощо). Більш схильні до зараження діти та літні люди через незміцнілого або ослабленого імунітету. Тим не менш, обережними потрібно бути і дорослим людям, які відрізняються міцним здоров'ям.

Джерелами патогенних штамів кишкової палички є:

- їжа, приготовлена з недотриманням санітарних норм;
- забруднення продуктів гноєм, полив врожаю забрудненою водою або стічними водами; вживання такого врожаю не вимитим;
- вживання для пиття води, забрудненої стічними водами;
- купання в інфікованих водоймах і випадкове ковтання такої води.

Симптоми зараження проявляються наступним чином:

- розлад стільця (пронос або запор);
- нудота і блювання;
- здуття живота, дискомфорт, біль у животі, метеоризм;
- зміна запаху калових мас, виникнення запаху з рота;
- загальне нездужання - слабкість, сонливість, відсутність апетиту;
- можливе підвищення температури тіла.

Діагностика наявності патогенних штамів кишкової палички відбувається на підставі аналізу калових або блювотних мас, гною, виділень зі слизової оболонки зівя і носа, при підозрах на сепсис на аналіз береться кров.

Лікування та профілактика кишкової інфекції передбачає терапію антибіотиками, проте підбирати їх треба з урахуванням результатів бактеріологічного посіву, на який спрямовується вміст кишечника. Найчастіше призначаються антибіотики з групи аміноглікозидів. При лікуванні антибіотиками завжди необхідно враховувати ймовірність розвитку дисбактеріозу, а тому профілактика цього порушення також передбачається і повинна бути прописана лікуючим лікарем.

Мікробіологічна діагностика ешерихіозів (ЗАМАЛЮВАТИ СХЕМУ)

Практична робота

Вивчити серологічну ідентифікацію культури у реакції аглютинації на склі з ешерихіозною полівалентною аглютинуючою ОКА-сироваткою та з ешерихіозною моновалентною аглютинуючою сироваткою O₅₅:K₅₉.

При вивченні антигенної структури *E. coli* з'ясовується належність бактерії до патогенної серогрупи, оскільки на середовищах Ендо та Левіна колонії патогенних та умовно-патогенних кишкових паличок не відрізняються одна від одної. Для цього необхідно провести реакцію аглютинації на склі з ешерихіозною полівалентною аглютинуючою ОКА-сироваткою (сироватка містить аглютиніни до 22 O- та K-антигенів *E. coli*). **Утворення зернистого аглютинату підтверджує те, що штам *E. coli* є патогенним.**

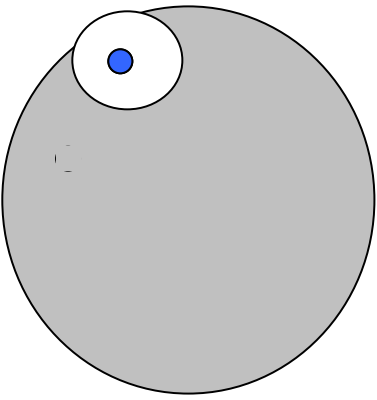
Оцінка результатів реакції. При проведенні реакції аглютинації студент повинен побачити утворення великопластівчастого аглютинату з ешерихіозними ОКА- та O₅₅:K₅₉-сироватками і зробити висновок стосовно культури бактерій.

Ідентифікація чистої культури *E. coli* за біохімічними властивостями.

Отримані результати є підставою для висновку, що за біохімічними властивостями бактерія є *E. coli*.

Назва бактерії	Глюкоза	Лактоза	Маніт	Мальтоза	Сахароза	ПВ	
						H ₂ S	ндол
<i>Escherichia coli</i>							

Визначення чутливості *E.coli* до антибактеріальних препаратів за допомогою диско-дифузійного методу.

Рисунок	Висновок (поставити плюси)
	1. 2. 3. 4.

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ДИЗЕНТЕРІЙ» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

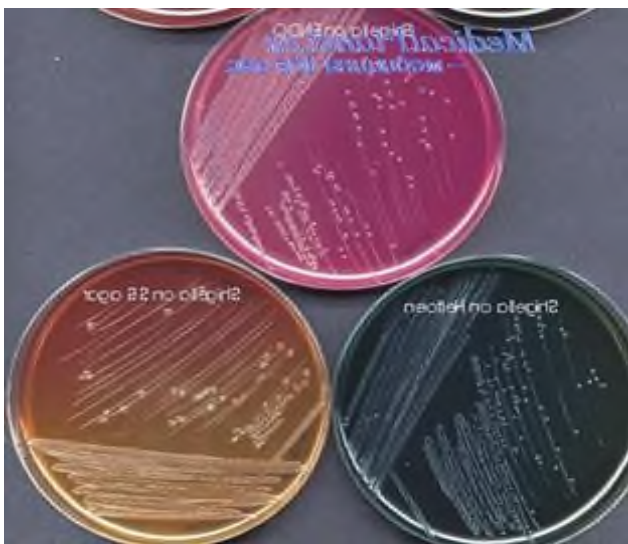
1. Біологічні особливості збудників шигельозу.
2. Антигенна структура шигел. Класифікація.
3. Епідеміологія шигельозу.
4. Патогенез, клініка шигельозу.
5. Особливості імунітету при шигельозі.

6. Мікробіологічна діагностика шигельозу.
7. Принципи профілактики та лікування шигельозу.

Дизентерія являє собою гостру кишкову інфекцію, викликану бактеріями роду *Shigella*, що характеризується переважною локалізацією патологічного процесу в слизовій оболонці товстого кишечника. Збудники дизентерії – шигели, в даний час представлені чотирма видами (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. Sonnei*), кожен з яких (за винятком шигели Зонне) в свою чергу поділяється на серовар, яких в даний час налічується більше п'ятдесяти. Популяція *S. Sonnei* однорідна за антигенному складом, але розрізняється по здатності продукувати різні ферменти.

Шигели – нерухомі грамнегативні палички, спор не утворюють, добре розмножуються на поживних середовищах, у зовнішньому середовищі зазвичай малостійкі. Оптимальна температурна середу для шигел – 37 ° С, палички Зонне здатні до розмноження при температурі 10-15 ° С, можуть утворювати колонії в молоці і молочних продуктах, можуть довгостроково зберігати життєздатність у воді (як і шигели Флекснера), стійкі до дії антибактеріальних засобів .

Шигели швидко гинуть при нагріванні: миттєво – при кип'ятінні, через 10 хвилин – при температурі понад 60 градусів.



Резервуаром і джерелом дизентерії є **людина** – хворий або безсимптомний носій. Найбільше епідеміологічне значення мають хворі з легкою або стертою формою дизентерії, особливо, що мають відношення до харчової промисловості та установам громадського харчування.

Шигели виділяються з організму інфікованої людини, починаючи з перших днів клінічної симптоматики, заразність зберігається протягом 7-10 днів, після чого слідує період реконвалесценції, в Який, однак, також не виключена виділення бактерій (іноді може тривати кілька тижнів і місяців).

Дизентерія Флекснера найбільш схильна до переходу в хронічну форму, найменша тенденція до хронізації відзначається при інфекції, викликаній бактеріями Зонне.

Дизентерія передається за допомогою фекально-орального механізму переважно харчовим (Дизентерія Зонне) або водними (Дизентерія Флекснера) шляхом. При передачі дизентерії Григор'єва-Шиги реалізується переважно контактнo-побутовий шлях передачі.



Люди володіють високою природною сприйнятливістю до інфекції, після перенесення дизентерії формується нестійкими типоспецифічний імунітет. Перехворіли дизентерії Флекснера можуть зберігати постінфекційний імунітет, що оберігає від повторного захворювання протягом декількох років.

Шигели потрапляють з їжею або водою в травну систему (частково гине під впливом кислого вмісту шлунку і нормального біоценозу кишечника) і досягають товстої кишки, частково проникаючи в її слизову оболонку і викликаючи запальну реакцію. Уражена шигелами слизова схильна до утворення ділянок ерозій, виразок, крововиливів. Виділяються бактеріями токсини порушують травлення, а також присутність шигел руйнує природний біобаланс кишкової флори.

В даний час застосовується клінічна класифікація дизентерії. Виділяють її гостру форму і атипову, хронічну дизентерію (рецидивуючу) і бактеріовиділення.

Інкубаційний період гострої дизентерії може тривати від одного дня до тижня, найчастіше складає 2-3 дні. Хворі скаржаться на інтенсивно ріжучий біль у животі, спочатку розлитий, пізніше концентрується в правій клубовій області і внизу живота. Біль супроводжується частою (досягає 10 разів на добу) діареєю, випорожнення швидко втрачають калову консистенцію, стають скудними, в них відзначаються патологічні домішки – кров, слиз, іноді гній («ректальний плювок»). Позиви до дефекації болісно болючі (тенезми), іноді – помилкові. Загальна кількість добових випорожнень, як правило, не велике. При огляді язик сухий, обложений нальотом, тахікардія, іноді артеріальна гіпотензія.

Безперервна хронічна дизентерія веде до розвитку важких порушень травлення, органічних змін слизової оболонки кишкової стінки. Інтоксикаційна симптоматика при безперервній хронічній дизентерії зазвичай відсутня, має місце постійна щоденна діарея, кашкоподібні випорожнення мають зеленуватий відтінок.

Мікробіологічна діагностика дизентерії (ЗАМАЛЮВАТИ)

Вивчення препаратів для діагностики, профілактики та лікування шигельозу.

Діагностичні препарати (ЗАПИСАТИ)

<i>Назва препарату</i>	<i>Практичне використання, мета застосування, назва реакції</i>
Шигельозна адсорбована аглютинуюча полівалентна сироватка	
Адсорбована аглютинуюча типова сироватка Флекснера	
Шигельозна аглютинуюча сироватка Зонне	
Шигельозна флуоресціююча	

сироватка Флекснера	
Шигельозний діагностикум Зонне	
Шигельозний еритроцитарний діагностикум Зоне	
Бактеріофаг шигельозний полівалентний (рідкий)	

Лікувально-профілактичні препарати

Назва препарату	Склад	Покази застосування до	Особливості імунітету
Бактеріофаг шигельозний полівалентний			

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ЧЕРЕВНОГО ТИФУ ТА ПАРАТИФІВ А і В» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика бактерій роду *Salmonella*.
2. Класифікація сальмонел за біохімічними властивостями та антигенною структурою. Класифікація Кауфмана-Уайта.
3. Патогенність сальмонел для людей та тварин.
4. Біологічні особливості збудників черевного тифу, паратифів А і В.
5. Патогенез черевного тифу, паратифів А і В. Фактори патогенності.
6. Особливості імунітету при черевному тифі, паратифах А і В. Бактеріоносійство.
7. Мікробіологічна діагностика черевного тифу, паратифів А і В.
8. Принципи специфічної профілактики та лікування черевного тифу, паратифів А і В.

Черевний тиф - це гостре інфекційне захворювання, яке характеризується тривалим перебігом, своєрідною температурною кривою, загальною інтоксикацією й утворенням виразок у тонких кишках. Збудником черевного тифу є особливого роду сальмонела (*salmonella typhi*), що представляє собою грамнегативний мікроорганізм, схожий за зовнішнім виглядом з іншими сальмонелами.



Черевний тиф досі супроводжується високою летальністю-до 9%, особливо у зв'язку з придбанням бацилою стійкості до антибіотиків. Вченими отримано особливий штам

сальмонели, який пропонується використовувати в якості живої вакцини. У зовнішньому середовищі тифозні бактерії стійкі, зберігаються до кількох місяців у харчових продуктах, особливо в молоці, сметані, сирі, овочах і фруктах активно розмножуються, при цьому продукти не змінюють смаку і запаху. Високі температури і дезінфікуючі засоби швидко вбивають сальмонелу. Окремі випадки черевного тифу трапляються досить часто, особливо наприкінці літа і восени; при сприятливих для нього умовах черевний тиф дає епідемічні спалахи. Початковим джерелом інфекції є людина: хворий на черевний тиф, видужуючий після цієї хвороби і здоровий, бактеріоносій. Тифозні палички виділяються з випорожненнями, а в гарячковому періоді також і з сечею. Єдине джерело інфекції - це людина, носій інфекції або хворий. Збудник з організму зараженого виділяється в зовнішнє середовище. Максимально активно мікроби виділяються на другий, або третій тижні інфекції.

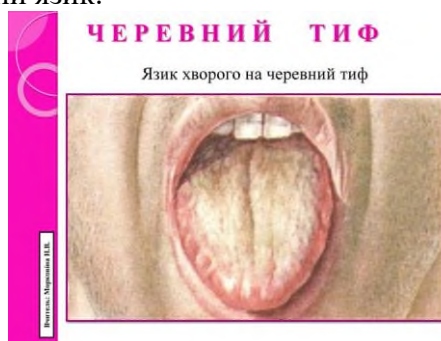
Зараження черевним тифом відбувається: 1) контактним шляхом при стиканні з хворим або носієм, 2) водним — при вживанні води, зараженої черевнотифозними мікробами, 3) харчовим — через їжу, що містить черевнотифозні палички. Вхідними воротами інфекції є ротова порожнина, куди мікроби попадають із -зараженою водою, їжею або ж заносяться брудними руками. Велике значення в поширенні черевного тифу мають мухи, які переносять на своїх лапках і хоботку тифозних мікробів. Контактні епідемії черевного тифу характеризуються повільним наростанням і повільним спаданням епідемічної хвилі. Водні епідемії відрізняються швидким розвитком, масовістю захворювань і швидким згасанням. Після бурхливого водного спалаху інфекція поширюється надалі контактним шляхом. Харчові епідемії характеризуються вогнищевістю: при них звичайно уражаються групи населення, зв'язані з певним джерелом харчування: їдальнею.

Черевний тиф

Ознаки:

<p>Початковий період підвищується температура тіла, з'являється слабкість, підвищена стомлюваність, почуття розбитості, погіршується апетит, порушується сон. Початковий період закінчується, коли температура тіла досягає максимуму, триває 4-7 днів.</p>	<p>Період розпалу Без лікування триває 2-3 тижні. Гарячка набуває стійкого постійного характеру на рівні 39-40°C. Інтоксикація наростає до максимуму. Шкіра та обличчя бліді, суха. Починаючи з 8 дня у може з'являтися рожево-лиловий висип.</p>	<p>Період зворотного розвитку хвороби й реконвалесценція При цьому температура тіла падає, симптоми поступово зникають протягом 1-2 тижнів. Рецидиви можуть настати в будь-які терміни після нормалізації температури тіла, але частіше на 2-3 тижні.</p>
---	---	---

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період від 7 до 20 днів, найчастіше—14. Здебільшого хвороба починається поступово загальним нездужанням і повільним підвищенням температури, нерідко позноблювання, головні болі, бронхіт, втрата апетиту, іноді проноси або запор. З розвитком гарячки всі явища наростають. З перших днів хвороби язик потовщується і вкривається білим нальотом, краї і кінчик його лишаються червоними — тифозний язик.



Часто здуття живота і невелика болючість в ілеоцекальній ділянці, свідомість потьмарюється, іноді маячення, пульс м'який, тони серця глухі, язик сухий, обкладений, живіт здутий, часто проноси — випороження з вигляду нагадують гороховий суп. На 8—10 день на шкірі грудей, живота й спини з'являються нечисленні рожеві плямочки, завбільшки з голівку шпильки—**розеоли**; при тисненні пальцем вони зникають.

На руках, ногах і на лиці розеол не буває.

Після черевного тифу лишається стійкий імунітет на все життя.

Ускладнення. Найбільш характерними ускладненнями для черевного тифу є кишкова кровотеча і перфорація кишок, що залежать від наявності виразкового процесу в кишках. З інших ускладнень при черевному тифу зустрічаються пневмонії в задньо-нижніх частинах легень, тромбофлебії найчастіше у венах стегна, пролежні, паротити, холецистити, менінгіти, нефрити, остеомієліти, абсцеси та ін.

Лабораторний діагноз.

1. **Гемокультура**, тобто виділення тифозних паличок з крові з допомогою посіву — ранній і найбільш точний метод діагностування черевного тифу. На першому і другому тижні хвороби гемокультура майже завжди дає позитивний результат.

2. **Реакція Відаля**, що ґрунтується на здатності крові черевнотифозних хворих склеювати тифозні палички, виходить позитивною (тобто в розведенні сироватки 1 :200 і більше) тільки з 8—10 дня хвороби.

3. **Виділення тифозних мікробів** з випорожнень проводиться п пізніх стадіях хвороби і для визначення носійства. Знаходження у випорожненнях тифозних паличок має діагностичне значення тільки при наявності клінічних симптомів тифу, без цього воно розглядається як носійство.

Мікробіологічне дослідження матеріалу при черевному тифі :

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.

NB! При черевному тифі діагностичним титром антитіл реакції Відаля є титр 1:200.

У людей, які вакциновані проти черевного тифу та паратифів, також спостерігається позитивна реакція Відаля з високим титром антитіл, тому "інфекційний Відаль" відрізняється від "щеплювального" лише за зростанням титру аглютининів у сироватці хворого.

РНГА із сальмонельозним еритроцитарним Vi-діагностикумом.

Антитіла до Vi-антигену при черевному тифі не мають значного діагностичного чи прогностичного значення. **Виявлення антитіл до Vi-антигену є важливими для виявлення осіб, підозрілих на бактеріоносійство.**

Для контролю за **реконвалесцентами РНГА** поставити у динаміці, а для виявлення бактеріоносіїв *S. typhi* поставити РНГА з еритроцитарним Vi-діагностикумом і оцінити за чотириплюсовою системою.

Підпис викладача _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЯ ХОЛЕРИ»

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Етіологія та екологія холери.
2. Біологічні особливості збудників холери.
3. Епідеміологія та патогенез, клініка холери.
4. Фактори вірулентності. Особливості імунітету.
5. Мікробіологічна діагностика холери.
6. Сучасна прискорена діагностика холери.
7. Діагностика бактеріоносійства.
8. Принципи неспецифічної та специфічної профілактики холери.
9. Принципи лікування хворих на холеру.

Захворювання холерою відноситься до категорії особливо небезпечних бактеріальних інфекцій, яке носить характер епідемій. Південно-Східна Азія, Латинська Америка, Індія, Африка – в цих країнах існують ендемічні вогнища і резервуари вірулентних штамів збудника, що пояснюється сприятливими для розмноження та життєдіяльності бактерії кліматичними умовами, а також наявністю великої кількості води для передачі. При цьому випадки зараження, характерні і для країн з помірним кліматом, тоді як епідемії властиві в умовах тропічного клімату. Захворювання характеризується важкою симптоматикою і високою смертністю. ВООЗ надає дані, що в 2010-му році кількість заражених склало від 3-х до 5-ти мільйонів людей, тоді як від хвороби померло 100-130 тис. Розбіжність в підрахованих показниках спостерігається по причині того, що в тропічних країнах і регіонах зі слабо розвинутою системою надання медичної допомоги хворі люди вмирали, не отримавши її, а тому випадки захворювання не були зареєстровані.

В якості збудника бактеріальної інфекції виступає холерний вібріон, який має два біовара вірулентної серогрупи O1. Першим є біовар cholerae, який в сучасності рідко викликає захворювання. Другий – це вібріон eltor, що характеризується більш високою вірулентністю і стійкістю в навколишньому середовищі, завдяки чому саме даний тип викликає основну кількість випадків хвороби, а, отже, і епідемій.

Бактерія передається фекально-оральним шляхом, що й обумовлює наявність ендемічних вогнищ в тропіках. Від зараженого з фекаліями бактерія з кишечника потрапляє у водне середовище, де залишається вірулентною близько місяця. Тому купання у водоймах, питво сирої води і використання немитого посуду дозволяє бактерії потрапити в організм. При цьому не завжди можливий розвиток хвороби, тому як вібріон життєздатний в лужному середовищі. Кисле середовище шлунка – це природний біологічний бар'єр, а тому більша частина випадків захворювання сполучена з попаданням великої кількості збудника, або з патологіями органу, що приводять до зниження вироблення кислоти.

Симптоми холери. Патогенетичний механізм розвитку хвороби пов'язаний з дією холерного ентеротоксину, що впливає на натрієві рецептори епітеліальних клітин тонкого кишечника. Порушуючи їх функціонування, виявляються основні симптоми холери: гіперсекреція іонів натрію в просвіт кишки, що веде за собою профузну діарею. За рахунок її вода швидко втрачається з організму, приводячи до системних порушень. При цьому ентеротоксин специфічний відносно натрієвих рецепторів людини, тому холерою хворіють виключно люди. За ступенем тяжкості виділяють три типи течії холери: важку, середньої тяжкості, а також легку. При легкому ступені симптоми холери включають одноразову блювоту, рідкий стілець, втрату рідини в співвідношенні 1-3% від фактичної маси тіла. Через 1-2 дні по мірі елімінації вібріона з організму захворювання припиняється.



Симптоми холери середньої тяжкості включають: профузну діарею 15-20 разів за добу; кал у вигляді мутної рідини, що не пофарбована жовчними пігментами (кал у вигляді рисового відвару); гострий біль у животі; помилкові дефекаційні позиви. Ступінь дегідратації в даному випадку становить 4-6% від маси тіла. При важкому ступені перебігу характерні аналогічні симптоми холери, які призводять до дегідратації 3-го ступеня. Співвідношення втраченої рідини становить 6-9% маси тіла.



Відзначається виражена задишка, ціаноз кінцівок, зниження шкірного тургору, судоми. На відміну від середньої тяжкості больовий синдром виражений слабо: больові відчуття в припупковій і епігастральній областях тупі.

Діагностика холери проводиться з урахуванням ендемічності захворювання, популярності факту епідемії в цільовому районі, а також при огляді і опитуванні пацієнта. Він може повідомити, що заразився після пиття води або купання.

Специфічні симптоми: забарвлення калу, частота дефекації, зневоднення, сильна спрага. Діагностика холери при спорадичних випадках покликана уточнити біовар і серотип збудника. Це проводиться після посіву мазка калу і мікроскопії. Також уточнення збудника може проводитися методом полімеразної ланцюгової реакції. З імунологічних методів використовується реакція аглютинації з використанням специфічних сироваток.



Метою діагностики холери є диференціація між сальмонельозами, дизентерією Зонне, вірусної діареєю, ботулізмом, отруєнням води ФОС, гастроентеритами, асоційованими з кишковою паличкою, отруєнням грибами.

Лікування холери. Важкість стану пацієнта є провідним фактором, на основі якого проводиться лікування холери. При легкому ступені хвороба може пройти самостійно, хоча пацієнт є розповсюджувачем вібриона в середовищі існування. Для його елімінації застосовується доксициклін (доза 300 мг, застосовується однократно при будь-якій тяжкості перебігу). При середньому і важкому перебігу потрібна корекція водно-електролітного балансу організму, детоксикація, антибіотикотерапія згідно з вищезазначеним принципом. Симптоматичне лікування холери включає інфузії розчинів електролітів. В якості ентеросорбентів використовується активоване вугілля, Препарати «Подіфепан», «Смекта».

Профілактика холери носить індивідуальний і суспільний характер. В рамках першого напрямку найефективніше вакцинація перед поїздкою в тропічну країну. Використовуються вакцини: WC / rBS – містить убиті клітини вібриона Cholerae O1 із зміненим непатологічним анатоксином, отриманим методами генної інженерії. Ефективність запобігання зараження 85-90%. CVD 103-HgR – містить невірулентні ослаблені клітини вібриона. Ефективність – 95%, повторне введення дає захист від біовара El Tor – 65%. Модифікована WC / rBS – містить слабовірулентні клітини вібриона. Приймається 2 дози з тижневим перервою. Має низьку ефективність, дешева, ліцензована тільки для В'єтнаму. Індивідуальна профілактика холери включає дотримання санітарних норм: миття рук, постільної білизни. В ендемічних осередках не можна купатися у водоймах. Громадська профілактика спрямована на знезараження часто відвідуваних місць і води, попередження розносу інфекції, усунення резервуарів.

Холера – це одне з захворювань, яке, незважаючи на ретельне опрацювання медичних заходів, протікає епідемічно. Висока смертність зберігається в тропічних країнах, при цьому епідемії також характерні і для США, незважаючи на розвиненість медичного обслуговування. Тому при виїзді в тропічний регіон незалежно від країни має сенс провести вакцинопрофілактику. Її термін дії складає 2-3 місяці, тому при повторному виїзді її знову потрібно проводити. Також під час перебування в тропічній країні в аптечці постійно повинен бути присутнім доксициклін.

Мікробіологічна діагностика холери (ЗАМАЛЮВАТИ СХЕМУ)

1. Вивчення мікроскопічного мікропрепарату “*V. cholerae*”

Назва препарату	Малюнок	Морфологічні та тинкторіальні властивості
<i>V. cholerae</i> , фарбування водним фуксином		

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЯ КАМПІЛОБАКТЕРІОЗІВ І ХЕЛІКОБАКТЕРІОЗУ» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Біологічні особливості збудників кампілобактеріозу та хелікобактеріозу.
2. Мікробіологічна діагностика кампілобактеріозу та хелікобактеріозу.
3. Епідеміологія та патогенез кампілобактеріозу та хелікобактеріозу.
4. Особливості імунітету.
5. Принципи профілактики та лікування кампілобактеріозу та хелікобактеріозу.

Campylobacter — рід грам-негативних бактерій. Рухомі, з одним або двома полярними джгутиками, ці організми мають частково скривлену паличкоподібну форму та позитивні на оксидазу. Як мінімум декілька видів *Campylobacter* — патогени людини, найчастіше це *C. jejuni* і *C. coli*, які спричинюють кампілобактеріоз. *C. fetus* — часта причина мимовільних абортів рогатої худоби й овець, так само як і опортуністичні патогени людини.

Кампілобактеріоз — гостра хвороба з групи зоонозів, що викликається бактеріями групи *Campylobacter* і характеризується переважним ураженням шлунково-кишкового тракту, гарячкою, загальною інтоксикацією. Ураження видами *Campylobacter* — одна з найзагальніших причин бактеріального гастроентериту людини. У США 15 з кожних 100 тисяч людей щороку діагностують кампілобактеріоз, при цьому багато випадків залишаються незареєстрованими, тому до 0,5 % всього населення, можливо, щорічно несвідомо заражається бактеріями *Campylobacter*. Діарея, судоми, біль у животі й гарячка розвиваються через 2-5 днів після проникнення *Campylobacter* і в більшості людей хвороба перебігає протягом 7-10 днів. Вона іноді може бути смертельною, і в деяких (менш ніж 1 в 1000 випадках) індивідуумів розвивається **синдром Гієна — Барре**, при якому пошкоджуються нерви, що ведуть від спинного і головного мозку до решти частин тіла.

Кампілобактеріоз зазвичай спричинює *C. jejuni*, спіралевидна бактерія, яку часто знаходять у рогатій худобі, свинях і птахів, де вона живе як сапрофіт. Але хворобу також можуть спричинити *C. coli* (також знаходять у рогатій худобі, свинях і птахів), *C. upsaliensis* (знаходять у котів і собак) і *C. lari* (знаходять у морських птахів). Патогенні бактерії частіше за все потрапляють до людей через заражені харчові продукти, часто недосмажені або невірно приготовлені, забруднену питну воду або контакт із зараженою домашньою птицею та тваринами.

Представники *Campylobacter* містять два тандемно розташовані гени флажєдіну для руху: *flaA* і *flaB*. Ці гени піддаються інтергенетичним рекомбінаціям,

зумовлюючи вірулентність.

Епідеміологія. Джерелом інфекції може бути велика рогата худоба, свині, вівці, кури, індики, собаки, коти, мишовидні гризуни, в окремих випадках — людина. Виділення збудника продовжується декілька тижнів і навіть місяців після клінічного одужання.

Механізм передачі — фекально-оральний, шляхи — харчовий (м'ясо, молоко, овочі, фрукти), водний, контактано-побутовий. Можливе також зараження новонародженого від матері при пологах або в постнатальному періоді. Збудник попадає в організм через травний канал, значно рідше — через пошкоджену шкіру. Хвороба зустрічається спорадично і у вигляді групових спалахів. Характерною є літня сезонність. Частіше хворіють діти віком від 3 до 5 років. Некишкові форми кампілобактеріозу реєструють частіше у дорослих, особливо — при СНІДі.

Клініка. Інкубаційний період триває 2-10 днів. За клінічним перебігом виділяють такі форми: гастроінтестинальну, генералізовану (септичну), хронічну і субклінічну (бактеріоносійство).

Найчастіше зустрічається гастроінтестинальна форма. Захворювання починається гостро. У 50 % хворих розвитку основних проявів передують продромальний період від декількох годин до 2-3-х днів. Його типові ознаки: загальна слабкість, мерзлякуватість, біль голови, міалгії, гарячка до 38 °С і вище, зрідка корчі та порушення свідомості. Далі приєднуються переймисті болі внизу живота (тривають 2-3 дні), нудота, блювання. Стілець стає рідкий, з неприємним запахом, іноді з домішками жовчі. Досить швидко кал набуває водянистого вигляду, з'являються домішки крові. Можливі ознаки зневоднення — сухість шкіри і слизових оболонок, олігурія, корчі. Діарея триває 2-4 дні. В цей час хворий виглядає дуже кволим. Живіт здутий, сигмоподібна кишка спазмована, болюча. В дорослих перебіг цієї форми хвороби, як правило, легший, ніж у дітей. Зокрема, патологічні домішки в калі, симптоми зневоднення відмічаються рідко. Можливі рецидиви хвороби.

Ускладнення: гострий апендицит, перитоніт, реактивний артрит, ДВЗ-синдром, інфекційно-токсичний шок.

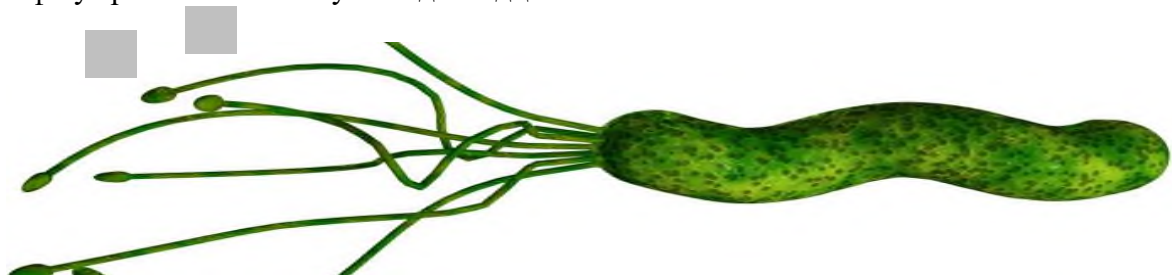
Для підтвердження діагнозу використовують РЗК з очищеним антигеном (діагностичний титр 1:8-1:10), реакцію імунної сорбції антибіодів, які мічені ферментом (титр 1 : 160 і вище), РІФ (1 : 10), РНГА (1 :20), спостерігається також збільшення титру Ig G і Ig M — АТ (1 :588 і 1 :39). Досліджують парні сироватки, взяті з інтервалом 7- 14 днів.

Виділення кампілобактерів у чистій культурі з промивних вод шлунка, блювотиння, випорожнень вимагає селективних поживних середовищ (Скірроу, Бутцлера, Сатру -ВАР та інші) та створення мікроаерофільних умов, що значно затруднює використання цього методу.

Лікування. Хворих госпіталізують згідно з клінічними та епідеміологічними показаннями. Проводять регідратацію з використанням сольових розчинів: дисоль, трисоль, квартасоль, регідрон, глюкосол. Її здійснюють перорально і тільки при важкому перебігу хвороби, дітям — парентерально. Антибіотикотерапія доцільна при значному болю у животі або при загрозі розвитку ускладнень. Ефективні гентаміцин, еритроміцин, доксициклін, левоміцетин, фуразолідон. Тривалість лікування 7-10 днів.

Профілактика та заходив осередку. Дотримання санітарних норм забою тварин та переробки м'яса, правил особистої гігієни. Специфічна профілактика не розроблена.

Helicobacter pylori — спіралева паличкова бактерія, що інфікує різні області шлунка і дванадцятипалої кишки.



Більшість випадків виразкової хвороби шлунку і дванадцятипалої

кишки, гастритів, дуоденітів і деякі випадки лімфом шлунку і раку шлунку етіологічно пов'язані з інфікуванням *Helicobacter pylori*. Проте, хоча значна частина населення інфікована цією бактерією, більшість заражених не проявляють жодних симптомів хвороби.

Види роду *Helicobacter* є ацидофільними екстремофілами, єдиними відомими на сьогодні мікроорганізмами, здатними тривало виживати в надзвичайно кислому майже анаеробному середовищі шлунку і колонізувати його слизову оболонку. Спіралевидна форма бактерії, від якої походить родова назва *Helicobacter*, як вважається, пов'язана з розвитком у цієї бактерії здатності проникати в слизову оболонку шлунку і дванадцятипалої кишки, оскільки така форма полегшує її рух в слизовому гелі, що покриває стінки травного тракту.

Бактерія була відкрита в 1979 році австралійським патологом Робіном Ворреном, який потім, починаючи з 1981 року, провів подальші її дослідження разом з Баррі Маршаллом. Воррену і Маршаллу вдалося виділити й ізолювати цей організм з проб слизової оболонки шлунку людини. Вони також були першими, кому вдалося культивувати цей організм на штучних поживних середовищах. Медичне і наукове співтовариства повільно і неохоче визнавали патогенетичну роль цієї бактерії в розвитку виразкової хвороби шлунку і дванадцятипалої кишки та гастритів, унаслідок поширеного на той час переконання, що жоден мікроорганізм нездатний вижити скільки-небудь тривалий час в кислому середовищі шлунку. Визнання науковим співтовариством етіологічної ролі цього мікроба в розвитку захворювань шлунку почало поступово приходити лише після того, як були проведені додаткові дослідження.

Helicobacter pylori — спіралеподібна грамнегативна бактерія, близько 3 мікронів у довжину, діаметром близько 0,5 мікрона. Вона має 4-6 джгутиків і здатна надзвичайно швидко рухатися навіть в густому слизі або агарі. Вона мікроаерофільна, тобто вимагає для свого розвитку наявність кисню, але в значно менших концентраціях, ніж атмосферні.

Бактерія містить **гідрогеназу**, фермент, що може використовуватися для отримання енергії шляхом окиснення молекулярного водню, що виділяється іншими кишечними бактеріями. Бактерія також виробляє **оксидазу, каталазу і уреазу**.

Helicobacter pylori має здатність формувати біоплівки, в яких внутрішні шари захищені від дії кислоти та інших шкідливих чинників зовнішнім шаром слизу і бактерій та переходу від спіральної до кокової форми. Ймовірно, обидва фактори збільшують здатність її виживання в кислому й агресивному середовищі шлунку. Кокову форму поки-що не вдалося культивувати на штучних поживних середовищах, хоча вона може спонтанно виникати в міру «старіння» культур і була виявлена в деяких водних джерелах в США та інших країнах. Кокова форма бактерії також володіє здібністю до адгезії до клітин епітелію шлунку *in vitro*.

Фактори вірулентності. Важливими факторами вірулентності *Helicobacter* є наявність у неї джгутиків, завдяки яким забезпечується швидкий рух мікроорганізму в шарі густого слизу, що захищає слизову оболонку шлунку від дії кислоти, її можливість здійснювати хемотаксис в місця скупчення інших бактерій цього виду і, в результаті, швидка колонізація слизової оболонки.

Деякі ліпополісахариди і білки зовнішньої мембрани бактерії мають властивість адгезії до зовнішньої оболонки мембран клітин слизової оболонки шлунку. Літичні ферменти, що секретуються бактерією в зовнішнє середовище, — муциназа, протеази, ліпаза — викликають деполімерізацію і розчинення захисного слизу (що складається в основному з муцину) і пошкодження власне клітин слизової оболонки шлунку.

Дуже важливу роль у вірулентності бактерії і в її здатності виживати в кислому вмісті шлунку грає секреція бактерією **уреази** — ферменту, що розщеплює сечовину з утворенням аміаку. Аміак нейтралізує соляну кислоту шлунку і забезпечує бактерії локальну підтримку комфортного для неї рН (близько 6-7). Одночасно з цим аміак викликає хімічне подразнення і запалення, а згодом і загибель клітин слизової оболонки шлунку.

Продукція бактерією різних екзотоксинів, зокрема, вакуолізуючого екзотоксину (продукту гена *vacA*), також викликає вакуолізацію, пошкодження і загибель клітин слизової оболонки шлунку.

Діагностика гелікобактерної інфекції зазвичай проводиться шляхом опитування хворого на наявність диспептичних скарг і симптомів, а потім виконання тестів, які можуть допомогти підтвердити або спростувати факт наявності гелікобактерної інфекції.

Неінвазивні (без застосування ендоскопії) тести на наявність бактерії включають визначення титру антитіл в крові до антигенів *H. pylori*, визначення наявності антигенів *H. pylori* в калі, а також уреазний дихальний тест, що полягає в тому, що пацієнт випиває розчин міченої ¹⁴C- або ¹³C-вуглецем сечовини, яку бактерія розщеплює з утворенням міченого ¹⁴C- або ¹³C- двоокису вуглецю, який потім може бути виявлений в повітрі, що видихається, за допомогою вимірювання радіоактивності (у випадку мічення радіоактивним ізотопом вуглецю C-14) або мас-спектрометрії (у випадку мічення стабільним ізотопом



вуглецю C-13).



Проте найнадійнішим методом діагностики інфекції цієї бактерією залишається біопсія, що проводиться під час ендоскопічного обстеження шлунка і дванадцятипалої кишки. Узяті при біопсії тканину слизової оболонки піддають швидкому тестуванню на наявність уреазі і антигенів *H. pylori*, гістологічному дослідженню, а також культуральному дослідженню з виділенням бактерії на штучних живильних середовищах.

Жоден з методів діагностики інфекції *H. pylori* не є повністю достовірним і захищеним від діагностичних помилок чи невдач. Зокрема, результативність біопсії в діагностиці гелікобактерної інфекції залежить від місця взяття біоптата, тому при ендоскопічному дослідженні обов'язкове взяття біоптатів з різних місць слизової оболонки шлунку. Тести на наявність антитіл до антигенів бактерії мають чутливість всього лише від 76 % до 84 %. Деякі ліки можуть впливати на активність уреазі, що виділяється *H. pylori*, внаслідок чого при дослідженні уреазної активності за допомогою міченої сечовини можуть вийти помилково негативні результати.

Хелікобактерна інфекція може супроводжуватися симптомами або протікати безсимптомно (без будь-яких скарг з боку інфікованого). Передбачається, що до 70 % випадків гелікобактерної інфекції протікають безсимптомно і що від 1/2 до 2/3 людської популяції у світовому масштабі інфіковано *H. pylori*. Дійсна кількість безсимптомних носіїв бактерії варіює від країни до країни. У розвинених країнах Заходу (Західна Європа, США, Канада, Австралія) ця частка становить приблизно 25 %, проте вона значно вища в країнах так званого «третього світу» та в посткомуністичних країнах Східної Європи і особливо в країнах колишнього Радянського Союзу. У країнах третього світу і в посткомуністичних країнах, унаслідок порівняно низьких санітарних стандартів і умов, не рідкісні випадки виявлення інфекції *H. pylori* у дітей і підлітків.

Лікування інфекції. У пацієнтів з пептичною виразкою шлунка, у яких діагностована гелікобактерна інфекція, стандартним протоколом лікування є «ерадикація *Helicobacter pylori*», тобто лікувальний режим, направлений на повне знищення цього мікроба в шлунку з метою забезпечити умови для загоєння виразки.

Стандартною терапією при гелікобактерній інфекції сьогодні є так звана «однотижнева потрійна терапія» - комбінація амоксициліну, кларітроміцину й інгібітора протонного насоса, такого, як омепразол.



Зв'язок з раком. Рак, так і лімфома лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизом, пов'язані з *H. pylori*, а бактерія категоризується як канцероген I групи Міжнародним агенством дослідження раку (IARC).

Мікробіологічна діагностика кампілобактеріозу та хелікобактеріозу

Практична робота

1. Вивчення морфологічних та тинкторіальних властивостей збудників кампілобактеріозу та хелікобактеріозу.

<i>Campylobacter jejuni</i> , фарбування за методом Грама	<i>Helicobacter pylori</i> , Фарбування за методом Грама
Рисунок	
Тинкторіальні та морфологічні властивості	

2. Описати культуральні властивості *C. jejuni* та *Helicobacter pylori* на шоколадному агарі.

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «МІКРОБІОЛОГІЯ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ. МІКРОБІОЛОГІЯ ГОСТРИХ КИШКОВИХ ІНФЕКЦІЙ, ЯКІ СПРИЧИНЕНІ УМОВНО-ПАТОГЕННИМИ БАКТЕРІЯМИ, ТА ХАРЧОВИХ ТОКСИКОІНФЕКЦІЙ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЕТІОЛОГІЇ»
ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Біологічні властивості збудників сальмонельозу, їх антигенна структура та класифікація.
2. Біологічні властивості збудників гострих кишкових інфекцій та харчових інтоксикацій: ETEC, *S. sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*.
3. Епідеміологія та патогенез сальмонельозу.
4. ГКІ, які спричинені умовно-патогенними бактеріями, та харчові токсикоінфекції, особливості імунітету.
4. Мікробіологічна діагностика сальмонельозу та харчових токсикоінфекцій бактеріальної етіології.
5. Особливості мікробіологічної діагностики ГКІ, які спричинені умовно-патогенними бактеріями.
6. Принципи профілактики та лікування сальмонельозу, ГКІ, які спричинені умовно-патогенними бактеріями, та харчових токсикоінфекцій бактеріальної етіології.

Харчові токсикоінфекції – це група гострих інфекційних захворювань, що виникають в результаті отруєння людини піщевими продуктами, що містять вироблені умовно патогенною флорою екзотоксини. Збудником харчової інфекції можуть бути мікроорганізми різних родів: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Enterococcus* та ін. Ці бактерії дуже поширені в природі, в переважній більшості вони входять до складу нормального біоценозу кишечника людини. Оскільки клінічна картина токсикоінфекції розвивається в результаті впливу не самих мікроорганізмів, а токсичних продуктів їх життєдіяльності, збудник як такої, нерідко, не виділяється. Умовно-патогенні бактерії здатні змінювати свої біологічні властивості (стійкість до антибіотиків і дезінфікуючих засобів, вірулентні характеристики) в результаті впливу факторів навколишнього середовища.

Джерелом і резервуаром інфекції, зазвичай, є люди і сільськогосподарські тварини, птиця. Найчастіше це особи, які страждають захворюваннями бактеріальної природи з активним виділенням збудника (гнійні захворювання, ангіни, фурункульозу), молочну худобу, хвору маститом. Для деяких родів бактерій, здатних викликати харчову токсикоінфекцію, резервуаром може служити ґрунт і вода, забруднений фекаліями тварин та людини об'єкти навколишнього середовища. Токсикоінфекції передаються **по фекально-орального механізму переважно харчовим шляхом**. Мікроорганізми потрапляють у харчові продукти, де відбувається їх активне розмноження і накопичення. Харчова

токсикоінфекції розвивається тоді, коли людина вживає в їжу продукти, в яких утворилася висока концентрація мікроорганізмів. Токсикоінфекції в переважній більшості випадків виникають при вживанні продуктів тваринного походження: м'яса, молочних продуктів, кондитерських виробів з жирними кремами, риби. М'ясо й напівфабрикати з нього (фарш) є основним джерелом кластрідіальної інфекції. Деякі способи виготовлення напівфабрикатів і страв, умови зберігання та транспортування сприяють проростання спор і розмноженню бактерій. Для продуктів, уражених стафілококами, характерна відсутність видимих і смакових відмінностей від нормальної їжі. У передачі інфекції можуть брати участь різні об'єкти і предмети, джерела води, ґрунт, пил. Для захворювання характерна сезонність: у теплу пору року частота токсикоінфекцій збільшується, оскільки температура повітря сприяє активному розмноженню бактерій. Токсикоінфекції можуть виникати як у вигляді окремих випадків у побуті, так і спалахами при організованому харчуванні в колективах. В патогенезі токсикоінфекцій основну роль відіграють **токсини**, що виділяються збудниками. В залежності від переважно типу токсинів розрізняються і особливості клінічного перебігу.

Симптоми харчової токсикоінфекції. Інкубаційний період токсикоінфекції рідко перевищує кілька годин, але в деяких випадках може скорочуватися до півгодини або подовжуватися до доби. Хоча збудники токсикоінфекції досить різноманітні, клінічна картина при зараженні, як правило, схожа. Захворювання зазвичай починається гостро, з нападів нудоти і багаторазової блювоти, ентеритної діареї. Частота дефекацій досягає 10 разів на добу і більше. Можуть спостерігатися болі в животі схваткообразного характеру, підвищення температури (зазвичай триває не більше доби), ознаки інтоксикації (озноб, ломота в тілі, слабкість, головний біль). Швидка втрата рідини з блювотою і калом призводить до розвитку синдрому дегідратації. Хворі, як правило, бліді, шкірні покриви сухі, кінцівки холодні. Наголошується хворобливість при пальпації в епігастрії і біля пупка, тахікардія, артеріальна гіпотензія. Захворювання триває не більше 1-3 днів, після чого клінічна симптоматика вщухає. Існують деякі особливості протікання токсикоінфекції в залежності від характеру збудника. При ураженні стафілококами відзначається швидке гострий початок, переважає шлунково-кишкова симптоматика, температура може залишатися нормальною або досягати субфебрильних цифр, діарея може бути відсутнім. З перших же годин захворювання можуть відзначатися судоми і ціаноз шкірних покривів, але найчастіше гостра клініка триває не більше 1-2 днів і не викликає серйозних порушень водно-електролітного гомеостазу. Протейна токсикоінфекція відрізняється зловонними каловими масами.

При діагностиці харчових токсикоінфекцій проводять виділення збудника з блювотних мас, випорожнень, промивних вод шлунка. При виявленні збудника виробляють бакпосів на живильні середовища і визначають його токсигенні властивості. Однак у багатьох випадках виявлення неможливо. Крім того, не завжди виявлені мікроорганізми є безпосередньою причиною токсикоінфекції. Зв'язок збудника із захворюванням визначають або за допомогою серологічних тестів, або, виділивши його з харчових продуктів і в осіб, які вживали ту ж їжу, що і хворий.

Лікування харчових токсикоінфекцій симптоматичне. При тяжкому перебігу можуть призначатися антибактеріальні засоби. Після припинення блювоти і діареї нерідко рекомендують ферментні препарати (фестал, панкреатин, тріфермент, панзинорм) для якнайшвидшого відновлення травлення і пробіотики (біфідумбактерин, біфікол) .

Загальна профілактика токсикоінфекцій полягає в заходах санітарно-гігієнічного контролю на підприємствах і господарствах, чия діяльність пов'язана з виготовленням, зберіганням, транспортуванням продуктів харчування, а так само в закладах громадського харчування, їдальнях дитячих і виробничих колективів. Крім того, здійснюється ветеринарний контроль над станом здоров'я сільськогосподарських тварин. Індивідуальна профілактика полягає в дотримання правил особистої гігієни, зберігання і кулінарної обробки харчових продуктів. Специфічної профілактики, в силу численних видів збудника і широкого поширення його в природі, не передбачено.

Мікробіологічна діагностика ГКІ, які спричинені умовно-патогенними бактеріями

Мікробіологічна діагностика сальмонельозу

Мікробіологічна діагностика стафілокової інтоксикації

2. Вивчити діагностичні та лікувально-профілактичні препаратів.

- Сальмонельозна адсорбована аглютинуюча полівалентна O-сироватка.
- Сальмонельозна аглютинуюча полівалентна групова O- (O1-, O4-, O5-, O12-) сироватка.
- Сальмонельозна адсорбована аглютинуюча Ні- сироватка.
- Ешерихіозна аглютинуюча моновалентна O25- сироватка.
- Сальмонельозний моновалентний O9-діагностикум.
- Бактеріофаг сальмонельозний моновалентний (рідкий).
- Бактеріофаг шигельозний моновалентний (рідкий).
- Бактеріофаг сальмонельозний полівалентний А,В,С,D,Е (таблетований).
- Бактеріофаг клебсієльозний.
- Інтесті-бактеріофаг рідкий.
- Бактеріофаг коліпротейний.
- Лактоглобулін сальмонельозно-колі-протейний.

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій» ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика збудників анаеробних інфекцій.
2. Мікробіологічна діагностика правця та газової гангрени.
3. Епідеміологія та патогенез правця та газової гангрени.
4. Особливості імунітету.
5. Принципи профілактики та лікування правця та газової гангрени.
6. Мікробіологічна діагностика анаеробної інфекції, викликані фузобактеріями та бактероїдами.
7. Ботулізм. Патогенез, клініка, лабораторна діагностика.

Анаеробна інфекція. Збудниками анаеробної інфекції є патогенні анаероби, які розвиваються без доступу кисню і виділяють сильні екзотокси, що відрізняються нейротоксичними властивостями. Збудників газової гангрени багато. Класичними є *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. septicum*. *Cl. Perfringens*. Проникаючи внаслідок поранень в тканини, анаеробні мікроби вражають насамперед м'язи і судини. В результаті некротичного впливу на тканини і тромбозу виникає газова гангрена. Інкубаційний період триває від декількох годин до трьох-чотирьох діб.

Клінічна картина. Хворі скаржаться на гострий біль в області рани. Кінцівка набрякає, пов'язка стає тісним, і хворі просять розслабити її. Рана висихає, з неї виділяються бульбашки газу з великою кількістю сукровичної рідини, м'язи набухають і нагадують варене м'ясо. Шкіра холодна на дотик, внаслідок гемолізу з'являються бронзові і темно-червоні плями. Температура підвищується до 38-39 ° С. Наявні тахікардія і знижений артеріальний тиск, порушуються функції печінки і нирок. Одним з перших симптомів газової гангрени є розпираючий біль у рані. Друга ознака це набряк, швидко збільшується.



Для контролю за наростанням набряку накладають нитки на кінцівку в поперечному напрямку. Врізання нитки в тіло свідчить що набряк, прогресує. Біль, набряк, підвищення температури, почастішання пульсу, а потім зміни психіки (ейфорія) є ранніми ознаками газової гангрені. Інфекційні процеси, які перебігають з участю анаеробів, мають характерні клінічні ознаки, що пояснюються особливостями метаболізму анаеробів, точніше – гнильним характером ураження, газоутворенням. **Ознака анаеробної інфекції – це гнильний її характер.** Осередки ураження вміщують мертві тканини сірого, сіро-зеленого кольору. Симптом – колір ексудату – сіро-зелений, коричневий, вміщує краплини жиру (пухирці газу, гній – рухомий, дифузно просякаючий запальні тканини, тоді як при аеробному нагноєнні гній густий, колір – однорідний, темно-жовтий, без запаху.

Профілактика анаеробної інфекції полягає у своєчасному і правильному накладення на рану первинної асептичної пов'язки, транспортної іммобілізації кінцівок при значних пораненнях, тимчасове призупинення кровотечі, боротьбі з шоком.

Хворі газовою гангrenoю вимагають уважного догляду. Медперсонал повинен дотримуватися особистої гігієни і чистоти в палатах. Перев'язки та обробку шкірних покривів слід проводити інструментами і в гумових рукавичках. Особливу увагу потрібно звернути на профілактику пролежнів, можливі ускладнення в органах дихання, шлунково-кишковому тракті і сечовивідній системі.

Правець (лат. *Tetanus*) - гостре інфекційне захворювання, що вражає нервову систему, викликає тонічні і тетанічні судоми скелетних м'язових волокон, що ведуть до асфіксії. Має надзвичайно високу летальність. Збудником захворювання є анаеробна спороутворююча паличка *Clostridium tetani*. Правець може виникнути після будь-яких травм з пошкодженням шкірних покривів та слизових оболонок, забруднених спорами збудника. Збудником правця є правцева паличка, яка належить до анаеробних мікробів, утворює спори і виділяє токсин. Вона міститься у ґрунті, а спори її є в травному каналі овець, коней та інших свійських тварин. Паличку правця неодноразово виявляли на забрудненому одязі, білизні, волоссі, а також у зруйнованих зубах. У зовнішнє середовище паличка потрапляє з випорожненнями людини і тварин. Збудник правця дуже стійкий: витримує нагрівання до 80 градусів протягом однієї години, у висушеному вигляді без доступу світла зберігається до 10 років, а спори його при кип'ятінні протягом 30-60 хв. гинуть не в 100% випадків. У зовнішньому середовищі спори зберігаються роками, а коли потрапляють у сприятливі умови – проростають, і з них знов утворюються правцеві палички, які швидко розмножуються.

Збудник проникає в організм людини, частіше через колоті рани, при побутових і сільськогосподарських травмах, особливо нижніх кінцівок. Захворювання може розвинути при укусах, опіках, відмороженнях, у породіль при порушенні асептики, у новонароджених при забрудненні пупкової рани. Безпосередньо від хворої людини або тварини правець не передається. Сприйнятливість до правця висока, але завдяки масовій імунізації реєструються лише поодинокі випадки. Частіше хворіють жителі сільської місцевості. Максимум

захворювань припадає на літо та осінь. Після перенесеної хвороби імунітет не залишається.

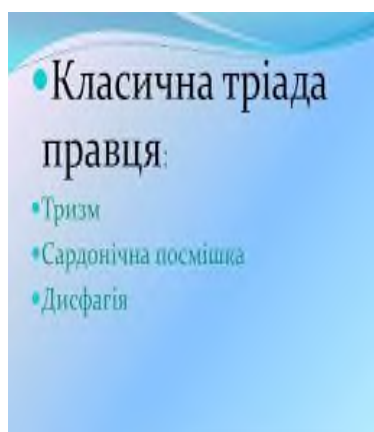
Правець в Україні і сьогодні залишається значною медичною та соціальною проблемою, оскільки займає за летальністю четверте місце після СНІДу, сказу та мієлоїдозу. В середньому в Україні за останні 5 років летальність від правця перевищує 60%. Високу летальність зумовлюють:

- вікова структура хворих, 85 % якої складають люди похилого віку, переважно старші 60 років;
- порушення у проведенні як планової активної, так і активно-пасивної (після травми) імунізації, що не забезпечує належного захисного рівня протиправцевого імунітету;
- відсутність належної санітарно-освітньої роботи, внаслідок чого майже 80% потерпілих після травм несвоєчасно або зовсім не звертаються по медичну допомогу;
- наявність регіонів з високим ризиком зараження, де ступінь осіменіння ґрунтів правцевою паличкою 95-98%.

У світі щорічно від правця гине понад 160 000 людей.

Патогенез. Вегетативні форми збудника в анаеробних умовах здатні виробляти екзотоксин, який по рухових волокнах периферичних нервів і гематогенів поступають в довгастий і спинний мозок, блокують гальмівні нейрони, що приводить до розвитку тривалих тонічних судом скелетної мускулатури і різкого підвищення рефлекторної збудливості нейронів, а також до загострення слухової і зорової чутливості.

Клініка. За клінічним перебігом виділяють 4 форми правця: блискавичну, гостру, підгостру і хронічну. Правець починається з слабкості, дратівливості, головного болю, посмикування м'язів у ділянці рани. Надалі розвивається ригідність м'язів, що найперше виникає поблизу рани та у жувальних м'язах – тризм (хворому важко відкрити рот через короткотривалі судоми і біль в жувальних м'язах). Виникає тягучий біль і ригідність м'язів шиї, потилиці, спини, поперекової ділянки. Іноді може бути біль в животі і напруження м'язів передньої черевної стінки. У зв'язку з скороченням м'язів обличчя набуває характерного вигляду "сардонічної посмішки". Виникає відчуття страху, порушується сон. Згодом тонічні судоми охоплюють всі м'язи тулуба, хворий вигинається дугою, опираючись на п'яти і потилицю (опістотонус).



Притомність при правці збережена.

Лікування. Лікування хворих на правець має бути комплексним і включати: хірургічну обробку рани, нейтралізацію циркулюючого в крові токсину, зменшення або зняття судомного синдрому, запобігання ускладненням і лікування їх, регуляцію водно-електролітного балансу, створення відповідних умов (повний спокій) і ретельний догляд. **Протиправцеву сироватку вводять методом дробленої десенсибілізації, однократно в**

дозах 100 000-150 000 МО для дорослих, 20 000-40 000 МО для новонароджених, 80 000-100000 МО для дітей старшого віку. Призначають антибіотикотерапію.

Профілактика Головним у профілактиці правця є запобігання травмам (дотримання правил техніки безпеки на виробництві і в домашніх умовах) і вакцинація, яку проводять у плановому порядку та екстрено у випадку травми. Екстрену профілактику починають з первинної хірургічної обробки рани. Введення імунних препаратів залежить від наявності даних про попередні щеплення. Для екстреної імунізації правця застосовують протиправцеву сироватку, протиправцевий людський імуноглобулін і адсорбований правцевий анатоксин. Протипоказанням до проведення екстреної профілактики правця є підвищена чутливість до відповідного препарату і вагітність. **У першій половині вагітності протипоказане введення адсорбованого правцевого анатоксину і сироватки, у другій - введення сироватки. Таким особам вводять протиправцевий людський імуноглобулін.**

Ботулізм (з лат. *botulus* — ковбаса — це гостре токсико-інфекційне захворювання, що спричинюється переважно дією токсину *Clostridium botulinum*, і характеризується міоплегією та офтальмоплегією, парезом кишечника, розладами вегетативної іннервації, при тяжкому перебігу — бульбарним синдромом і гострою дихальною недостатністю. Подальші дослідження показали, що існують декілька типів/серотипів *Clostridium botulinum*. До початку ХХ століття вважали, що «ботуліногенними» є лише м'ясні чи рибні продукти. Незважаючи на той факт, що ботулізм зустрічається набагато рідше, ніж багато інших інфекційних хвороб, він постійно привертає увагу дослідників і клініцистів. Це пов'язано з загальною тяжкістю захворювання, багатьма непроясненими аспектами патогенезу і високою смертністю.



БОТУЛІЗМ – це харчова інтоксикація, зумовлена споживанням продуктів, які містять ботулотоксини. Інфекція розмножується в анаеробному стані (без кисню) та за неправильних умов зберігання чи транспортування (консерви, в'ялена та солена риба, ковбаси, шинка)

Збудник ботулізму існує у двох формах:

вегетативна форма



Гине під час кип'ятіння за 10-15 хв.

Пригнічує розмноження
уміст солі > 15%
уміст цукру > 50%

спорова форма

Виключно стійкі до впливу фізичних і хімічних чинників, у висушеному стані зберігають життєздатність десятками років, добре переносять низькі температури, заморожування

Знищити можливо лише автоклавуванням під впливом високого тиску і t° 120 С

Резервуар інфекції



Збудники ботулізму широко поширені в природі. Спори *Clostridium botulinum* серотипу А, В, G, зрідка Е, ізольовані з ґрунту, більшість штамів серотипу Е — з прибережного мулу, піску берегів (от чому прісноводна риба часто інфікована патогенами

саме серотипу E). Спори, що мають здатність протягом тривалого часу зберігатися, за певних умов можуть перетворюватися у вегетативні форми і навіть накопичуватися в ґрунті, мулі, а особливо, в трупах тварин. Вважається, що біологічне значення ботулотоксину як нейротоксину — смерть власника і трансформація його останків в середовище для інтенсивного розмноження патогенних мікроорганізмів. Таким чином, ботулізм належить до **групи особливих хвороб — сапронозів**, джерелами інфекції є мертві тварини, птахи, риби, а ґрунт, річний мул служить потужним резервуаром інфекції. **Визначено, що:**

- серотип А спричиняє захворювання у людей (включаючи ботулізм у немовлят та рановий), а також у курей (англ. *limberneck*). Харчовий ботулізм у людей в цих випадках відбувається через м'ясо, рибу, овочі та фрукти;
- серотип В зумовлює захворювання у людей (включаючи ботулізм у немовлят та рановий), а також у коней та великої рогатої худоби. Харчовий ботулізм у людей в цій ситуації відбувається переважно через свинину;
- серотип С (з обома підвидами ботулотоксину С — С1 та С2) породжує захворювання на ботулізм у водоплавних птахів (англ. *Western duck sickness*) (через гниючу водну рослинність лужних болот, а також — живучих у воді безхребетних), а також у великої рогатої худоби (англ. *Midland cattle disease*) та коней (англ. *forage poisoning*) через заражене сіно, дуже рідко при поїданні цими тваринами падла, свинячої печінки;
- серотип D спричиняє хворобу у великої рогатої худоби (афр. *lamziekte*) при поїданні ними падла;
- серотип E зумовлює захворювання у людей, риб, водоплавних птахів через морські продукти, морську та прісноводну рибу;
- серотип F породжує хворобу у людей (включаючи ботулізм у немовлят) через м'ясні продукти;
- серотип G спричиняє окремі випадки ботулізму у людей, виявлений в ґрунті;

Механізм та шляхи передачі інфекції . Захворювання зазвичай розвивається, коли людина вживає їжу, що накопичила токсин внаслідок забруднення її та розмноження вегетативних форм збудника, тобто якщо в харчовому продукті виникли анаеробні умови. Найчастіше це в'ялена або слабо просолена риба, ковбаса, шинка, м'ясні, рибні, овочеві, грибні консерви.



При ботулізмі ще не всі ланки **патогенезу** вивчені достатньо. Є багато суперечок з приводу деталей та послідовності ураження ЦНС, вегетативної нервової системи та інших структур організму. У розвитку захворювання велику роль відіграє доза токсину, індивідуальна реактивність організму, яка, ймовірно, реалізується при певних генетичних особливостях людини. Так, коли зараження відбулося токсином серотипу С, дуже мало хто з людей хворіє, навіть при потраплянні великих доз токсину. Сенсibilізація при зараженні іншими типами токсину грає велику роль: навіть малі нелетальні дози, вжиті через певний проміжок часу, можуть обумовити парадоксальну сумарну дію, що призведе до смерті.

В МКХ-10 виділяють тільки А05.1 «Ботулізм», хоча клінічно вирізняють такі варіанти: харчовий ботулізм (97% всіх випадків); рановий; ботулізм немовлят; невстановлений.

Клінічні синдроми харчового ботулізму.

Міоплегічний. Першими і найбільш постійними симптомами ботулізму є підвищена стомлюваність, м'язова слабкість («ноги ватяні»), запаморочення. Слабкість прогресує. У розпалі хвороби особливо виразно помітно переважне ураження м'язів шиї та кінцівок. При тяжкому перебігу хворі не можуть самі йти, вони буквально «висять» на тих, хто їх супроводжує. М'язова сила в руках різко ослаблена: хворий не тільки не може підняти руку — вона падає «як батіг», не може стиснути руку співрозмовника.

Синдром парезу кишечника. У частини хворих (приблизно у 30—40% при ботулізмі, спричиненому серотипами А, В й Е) можуть у перші години і дні спостерігатися короткочасні ознаки ураження травної системи: нудота, блювання, послаблення випорожнень.

Офтальмоплегічний синдром. Порушення зору — один з найбільш яскравих та ранніх симптомів ботулізму. Перше, на що звертають увагу хворі, це порушення зору. Вони не можуть читати текст, який лежить перед ними, але добре бачать спочатку предмети, що розташовані далеко (тобто порушується спочатку ближній зір). Іноді хворі скаржаться, що перед очима з'являється «сітка», «імла», що заважає їм бачити предмети.

Серед **специфічних методів діагностики** перевагу віддають біологічному методу. Так як виявлення збудника у дорослих у виділеннях травної системи не дає підстави ставити діагноз ботулізм, більш переконливим підтвердженням діагнозу є виявлення ботулотоксину в досліджуваному матеріалі;— кров, блювотні маси, початкові промивні води. На білих мишах ставиться **реакція нейтралізації ботулотоксину**: внутрішньочеревно мишам вводять вищезгаданий досліджуваний матеріал в суміші з моновалентною протиботулінічною сироваткою (ПБС) проти типів А, В, Е (якщо випадок виник на теренах України). Спостереження здійснюють протягом 4 днів. За цей час миші, не захищені ПБС проти того серотипу збудника, який спричинив захворювання у пацієнта, гинуть при типовій для них клінічній картині ботулізму (прискорене дихання, парез мускулатури, «осина талія»). Залишаються живими миші, яким вводилася ПБС, відповідна типу ботулотоксину, що циркулює в крові хворого. Якщо у хворого реакція нейтралізації ботулотоксину позитивна з ПБС проти одного типу ботулотоксину, немає необхідності в проведенні бактеріологічного дослідження. **У більшості випадків бактеріологічне дослідження навіть не призначають**, обмежуючись постановкою реакції нейтралізації, яка має високу чутливість і специфічність. Лише виявлення при епідеміологічному розслідуванні збудника у тому продукті, що був з'їдений хворим, може бути розцінене як підтвердження ботулізму. Серологічні реакції в діагностиці ботулізму застосування не знайшли. Це пояснюється тим, що летальна доза значно менша від тієї, яка може викликати антигенне подразнення і появу специфічних антитіл. У значній кількості випадків ботулізм є виключно клініко-епідеміологічним діагнозом.

Застосування ботулотоксину як біологічної зброї

Збудник ботулізму (*Clostridium botulinum*) віднесено до тих біологічних агентів, які офіційно визнано такими, що можуть бути біологічною зброєю. Є відомості, що індійські чаклуни пропонували магараджам для вбивства особистого ворога висушений без доступу повітря, позбавлений смаку порошок, що був отриманий з кров'яної ковбаси. Його слід було непомітно додати в їжу ворогу, коли останнього чемно запрошували на бенкет. Смерть мала наступити через певний час після того, як відбувався бенкет, тому її аж ніяк не пов'язували з «гостинним» хазяїном-вбивцею. Американська спецслужба ОСС часів Другої світової війни під командуванням генерала У. Донована доручила шефу свого департаменту досліджень та розвитку Стенлі Ловеллу розробити операцію усунення деяких японських чиновників окупаційної адміністрації в Китаї. Американські розвідники знали, що японські загарбники охоче користуються послугами місцевих повій. Був запропонований наступний план. Вирішено було за допомогою жриць любові підмішати в їжу або пиття, які зазвичай рясно поглинають японці, токсин ботулізму. Китайки могли в своїх зачісках заховати капсули з отрутою, які можна було б непомітно підкинути в продукти. Оскільки ботулізм є досить

поширеною хворобою, то ніяких би підозр подібне захворювання і смерть від нього не викликала. Такі капсули з ботулотоксином були розроблені. Але Ловелл вирішив провести попереднє випробування. Капсули дали віслюкам, й ті не захворіли. Був зроблений висновок про неефективність такого способу, і проект, як безперспективний, був закритий. Яке ж було здивування і розчарування Стенлі Ловелла після війни, коли він дізнався, що в природі особливо стійкими до дії ботулотоксину є саме віслюки та їх напівкровки при схрещуванні з кінями — мули та лошаки. В 1980 р. терористична організація «Brigate Rosse» в ФРН на конспіративній квартирі зробила спробу виготовити ботулотоксин задля проведення терористичного акту. Є свідчення, що іракські війська, які захопили Кувейт, при відступі мали намір заразити ботулотоксином водні резервуари, щоб постраждали війська альянсу. В Іраку було в наявності 19000 літрів цього токсину. Начебто іракський уряд в 1995 р. визнав, що була дана команда завантажити 11200 літрів ботулотоксину в ракети СКАД під час війни в Перській затоці. Але при окупації Іраку союзними військами ніякої біозброї не знайшли. У 1999 р. в світі було 17 країн, в яких, за різними відомостями, проводилися державні розробки біологічної зброї, в тому числі, вирощувалися культури збудників ботулізму й, відповідно, отримували і його токсин.

Відомий російський епідеміолог, головний державний санітарний лікар СРСР (1965—1986 рр.), академік АМН СРСР П. М. Бургасов свідчив, що загрози застосування ботулотоксину проти громадян СРСР нібито дуже боялася радянська влада. Таємно, щоб світова спільнота не знала, за її наказом в одну з комплексних вакцин проти кількох інфекцій був введений вакцинний матеріал (анатоксин) проти ботулотоксину. Проводилася вакцинація від банальних хвороб, і ніхто навіть не знав, що радянські люди отримують й імунітет до ботулотоксину. Хоча є в цьому багато спірного — адже імунний захист після імунізації ботулотоксином є нетривалим...

Застосування ботулотоксину для лікування хвороб

В 1946 р. Е. Шантц отримав кристалічну форму очищеного ботулотоксину типу А. Цікаво, що в ті роки ці роботи велися для застосування ботулінічного токсину як біологічної зброї. Трансформація ботулотоксину з отрути в ліки сталася зусиллями доктора А. Скотта. У пошуках нехірургічного методу лікування косоокості він отримав від Е. Шантца очищений кристалічний ботулотоксин типу А і використовував його в експериментах на мавпах, а через 7 років у людей. Він продемонстрував безпеку та ефективність внутрішньом'язового введення ботулотоксину типу А для лікування хворих на косоокість. І в 1989 р. ботулотоксин типу А у вигляді препарату «Ботокс» був схвалений FDA для клінічного застосування у хворих із захворюванням м'язів очей. В 1990 р. був уведений препарат ботулотоксину типу А «Діспорт». В останні роки введені в клінічну практику препарати ботулотоксину типу В «Міоблок» і «Нейроблок», створені препарати подібного типу в Японії, Китаї та Німеччині. Натепер прицільне введення терапевтичних доз ботулотоксину використовують для лікування багатьох нейроном'язових розладів, він знайшов своє застосування в таких спеціальностях, як офтальмологія, неврологія, проктологія, гастроентерологія й косметологія.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів

<i>Чиста культура C. tetani, фарбування за методом Грама</i>	<i>Чиста культура C. botulinum фарбування за методом Грама</i>	<i>Чиста культура C. perfringens, фарбування за методом Грама</i>
Рисунок		

Вивчити та записати препарати для профілактики та лікування анаеробних інфекцій

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

**Тема «Мікробіологічна діагностика дифтерії та кашлюку»
ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ**

1. Дифтерія : епідеміологія, патогенез, особливості імунітету, профілактика та лікування.
2. Кашлюк: епідеміологія, патогенез, особливості імунітету, профілактика та лікування.
3. Мікробіологічна діагностика дифтерії .
4. Мікробіологічна діагностика кашлюку
5. Препарати для діагностики, профілактика та лікування дифтерії та кашлюку.

Дифтерію викликає *Corynebacterium diphtheriae* – грампозитивна нерухома бактерія, що має вигляд палички, на кінцях якої розташовуються **зерна волютину**, які надають їй вид булави. Дифтерійна паличка представлена двома основними біоварами. Патогенність мікроорганізму полягає в виділенні сильнотоксичного екзотоксину, по токсичності якому уступає тільки правцевий і ботулінічний. **НЕ продукуючі дифтерійний токсин штами бактерії не викликають захворювання.**

Збудник стійкий до впливу зовнішнього середовища, здатний зберігатися на предметах, в пилу до двох місяців. Добре переносить знижену температуру, гине при нагріванні до 60 ° С через 10 хвилин. Ультрафіолетове опромінення та хімічні дезінфікуючі засоби (лізол, хлорвмісні засоби та ін) діють на дифтерійну паличку згубно. **Резервуаром** і джерелом дифтерії є **хвора людина** або носій, що виділяє патогенні штами дифтерійної палички. У переважній більшості випадків зараження відбувається від хворих людей, найбільше епідеміологічне значення мають стерті та атипові клінічні форми захворювання. Виділення збудника в період реконвалесценції може тривати 15-20 днів, іноді подовжуючись до трьох місяців.

Дифтерія передається по аерозольного механізму переважно повітряно-крапельним або повітряно-пиловим шляхом. У деяких випадках можлива реалізація контактнo-побутового шляху зараження (при користуванні забрудненими предметами побуту, посудом, передачі через брудні руки). Збудник здатний розмножуватися в харчових продуктах (молоці, кондитерських виробках), сприяючи передачі інфекції аліментарним шляхом.

Люди володіють високою природною сприйнятливістю до інфекції, після перенесення захворювання **формується антитоксичний імунітет**, який не перешкоджає носійству збудника і не захищає від повторної інфекції, але сприяє більш легкому перебігу і відсутності ускладнень у разі її виникнення. Дітей першого року життя захищають антитіла до дифтерійного токсину, передані від матері трансплацентарно.

Класифікація дифтерії. Дифтерія розрізняється залежно від локалізації ураження та

клінічного перебігу на наступні форми:

дифтерія ротоглотки (локалізована, розповсюджена, субтоксических, токсична і гіпертоксическая)

дифтерійний круп (локалізований круп гортані, поширений круп при ураженні гортані і трахеї і низхідній круп при поширенні на бронхи);

дифтерія носа, статевих органів, очей, шкіри;

комбіноване ураження різних органів.

Симптоми дифтерії. Дифтерія ротоглотки розвивається в переважній більшості випадків. Початок захворювання – гостре, піднімається температура тіла до фебрильних цифр (рідше зберігається субфебрилітет), з'являються симптоми помірної інтоксикації (головний біль, загальна слабкість, втрата апетиту, збліднення шкірних покривів, підвищення частоти пульсу), біль у горлі. Лихоманка триває 2-3 дні, до другого дня наліт на мигдалині, перш фібринозний, стає більш щільним, гладким, набуває перламутровий блиск.



Нальоти знімаються важко, залишаючи після зняття, ділянки кровоточивості слизової – феномен кров'яної роси, а на наступну добу очищене місце знову покривається плівкою фібрину.

Ускладнення дифтерії. Найбільш часто і небезпечно дифтерія ускладнюється інфекційно-токсичним шоком, токсичним нефрозом, недостатністю наднирників. Можливі ураження з боку нервової (полірадикулоневропатія, неврити) **серцево-судинної (міокардит) систем.**

Діагностика дифтерії.

За наявності типової клінічної картини спеціальні методи діагностики є підтверджуючими, а не вирішальними при встановленні діагнозу «дифтерія».

Бактеріоскопічне дослідження. Для проведення його беруть тампоном матеріал по периферії ураженої ділянки. Тонкий мазок фарбують за Грамом. Вже через 1-2 години можна отримати попередню відповідь. Цей метод є орієнтовним, оскільки не дозволяє відрізнити *C. diphtheriae* від інших коринібактерій. Позитивний результат мікроскопічного дослідження мазків недостатній для того, щоб бути альтернативою бактеріологічному дослідженню. Негативний результат разом з тим ще не є підставою для зняття діагнозу.

Бактеріологічне дослідження — є найвірогіднішим підтвердженням діагнозу дифтерії. Його проводять з метою виділення культури *C. diphtheriae* і вивчення її токсигенних властивостей. При обстеженні контактних осіб бактеріологічне дослідження проводять одноразово, при підозрі на дифтерію — триразово до початку лікування. Вже через 24 години лабораторія може надати попередній висновок про наявність або відсутність в культурі *C. diphtheriae*. При вивченні токсигенних властивостей терміни отримання остаточного результату подовжується до 72 годин. Виділення нетоксигенного штаму *C. diphtheriae* у хворого з клінічними проявами дифтерії або будь-якими іншими змінами в ротоглотці, якщо хворий є з доказаного вогнища дифтерії, особливо на тлі лікування антибіотиками, слід розцінювати як підтвердження діагнозу «дифтерія».

Серологічне дослідження допомагає підтвердити діагноз. У РПГА досліджують парні сироватки. Про достовірність діагнозу свідчить наростання титру антигін в чотири і більше разів.

Специфічна діагностика проводиться на підставі бактеріологічного дослідження мазка зі слизових оболонок носа і ротоглотки, очей, геніталій, шкіри та ін., бакпосів на поживні середовища необхідно здійснити НЕ пізніше 2-4 годин після забору матеріалу. Визначення наростанням титру антитоксичних антитіл має допоміжне значення, проводиться за допомогою РНГА. Дифтерійний токсин виявляють за допомогою ПЛР, реакцією преципітації в гелі (**по Оухтерлоні**).

Лікування дифтерії. Хворі на дифтерію госпіталізуються в інфекційні відділення, етіологічне лікування полягає у веденні протидифтерійної антитоксичної сироватки за модифікованим методом Безредки. При тяжкому перебігу можливо внутрішньовенної введення сироватки. При загрозі розвитку вторинної інфекції призначається антибіотикотерапія.

Профілактика дифтерії Специфічна профілактика здійснюється планово всьому населенню, прищеплюються діти, починаючи з тримісячного віку, ревакцинаціями здійснюється в 9-12 місяців, 6-7, 11-12 та 16-17 років. При необхідності роблять вакцинації дорослих.

Кашлюк – одне з найбільш поширених інфекційних захворювань, яке передається повітряно-краплинним шляхом, а його основним проявом є нападоподібний кашель.



Кашлюк відноситься до керованих інфекцій, оскільки частота виникнення даного захворювання залежить від проведення та ефективності щеплень. В Україні протягом останніх 5-ти років значно збільшилась захворюваність на кашлюк, особливо серед дітей дошкільного та шкільного віку. Причиною підвищеної захворюваності стало значне зниження профілактичних щеплень проти кашлюка як внаслідок недостатнього та несвочасного забезпечення вакцинами, так і відмови батьків від проведення вакцинації.

Особливості збудника: грамнегативна паличка *Bordetella pertussis*

Джерело інфекції: хворі останні дні інкубації, протягом 30 днів з часу захворювання

Шлях зараження: Краплинний

Механізм передачі: повітряно-краплинний при тривалому контакті.

Вікові категорії, що вражаються найчастіше: немовлята, діти раннього віку

Вид імунітету після перенесеного тривалий, пожиттєвий.

Патогенез:

Вхідні ворота – слизова ВДШ.

2. Адгезія бактерій до війчастого епітелію трахеї.

3. Колонізація на циліндричному епітелії, виділення токсину.

4. Місцеві запальні процеси, некроз (катаральний період).

5. Вплив токсинів на ЦНС (дихальний центр, судиноруховий центр):

а) порушення ритму дихання, гіпоксемія, гіпоксія;

б) судинні розлади + гіпоксія → енцефалопатія.

б. Утворення застійного вогнища збудження в головному мозку.

Токсин, що виділяється збудником захворювання, має безпосередній вплив на нервову систему, за рахунок чого подразненню підлягають нервові рецептори, розташовані з боку слизової дихальних шляхів. За рахунок цього в дію приводиться актуальний для коклюшу кашльовий рефлекс, через якого згодом з'являються напади характерного кашлю- спів півня. При залученні нервових центрів, що знаходяться поруч, з'являється блювота (після завершення кашлевих нападів), а також судинні розлади (судинний спазм, зниження артеріального тиску) і розлади нервової системи (що проявляється у формі судом).

Основні ланки: адгезія збудника до війчастого епітелію, токсинемія, алергізуюча дія, гіпоксемія. Патогенетичним механізмом, що відповідає за нападоподібний кашель, є формування зони вогнища збудження у ЦНС за типом кашлюкової домінанти.

Патоморфологічні зміни: Катаральне запалення бронхів. Дрібні крововиливи в слизову бронхів, бронхіол. Перивентрикулярний та перибронхіальний набряк. Вогнищева емфізема

Клінічні критерії:

Інкубаційний період: 7-14 днів (середній 3-5 днів). У дітей грудного віку інкубаційний період скорочений до 3-5 днів. Дитина стає заразною з початку катарального періоду і аж до 25 днів спазматичного періоду продовжує залишатись загрозовою для оточуючих.

· **Катаральний (продромальний) період** триває 7-14 днів (у дітей грудного віку скорочується до 2-3 днів). Початок поступовий, спочатку покашлювання на тлі нормальної температури тіла, протягом тижня кашель підсилюється, частіше в нічний час.

· **Спазматичний період** починається наприкінці другого на початку третього тижня хвороби. Кашель стає нападаподібним, до 20 разів у добу, із блювотою, висуванням язика, іноді зі зупинкою дихання та наступним судомним, гучним, шумним вдихом. Сухий частий нападаподібний, що супроводжується репризами є провідною ознакою цього періоду.

Достовірний діагноз у катаральному періоді може бути поставлений після отримання результатів **бактеріологічних досліджень**. Підставою для дослідження в цих випадках зазвичай служать епідеміологічні дані (контакт з хворими на кашлюк, відсутність даних про щеплення та ін.) У періоді спазматичного кашлю діагноз коклюшу поставити значно легше, тому що з'являються типові напади. Однак потрібно враховувати, що іноді напади кашлю, подібні з кашлюковим, можуть бути обумовлені іншими причинами (аденовірусна інфекція, вірусні пневмонії, здавлення дихальних шляхів при злоякісних новоутвореннях, інфекційному мононуклеозі тощо), з іншого боку, кашлюк може протікати атипічно без характерних нападів (у щеплених дітей, у дорослих). Основним методом лабораторного підтвердження діагнозу є виділення збудника кашлюку.

Матеріал відбирають від появи перших клінічних симптомів і впродовж 2 тиж. хвороби методом кашльових пластинок або тампонами. Частота виділення залежить від моменту взяття матеріалу; на 1-му тижні захворювання позитивні результати вдається отримати у 95% хворих, на 4-й - лише у 50%, а починаючи з 5-го тижня, мікроб виділити вже не вдається.

Медикаментозне **лікування** передбачає антибіотико- та симптоматичну терапію. Основним **методом профілактики** кашлюка є вакцинація, яка проводиться вакциною АКДП та починається з 2-місячного віку (згідно нового календаря профілактичних щеплень). Завдяки проведеній вакцинації у дитини виробляється власний імунітет, який захищає її від кашлюка. У випадку коли щеплений малюк все ж таки захворів, що трапляється зрідка, перебіг хвороби буде значно легшим, а ускладнення не виникатимуть.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів.

Чиста культура <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , фарбування за методом Грама	Чиста культура <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , фарбування за методом Леффлера	Чиста культура <i>Bordetella pertussis</i> , фарбування за методом Грама
Рисунок		

2. Визначення токсигенності дифтерійних культур за допомогою реакції преципітації у гелі (Оухтерлоні).

Принцип: реакція преципітації запропонована для визначення токсигенності коринебактерій дифтерії та проводиться на фосфатно-пептонному агарі в чашці Петрі. По

центру чашки розміщують смужку стерильного фільтрувального паперу, змоченого антитоксичною протидифтерійною сироваткою. Після підсушування на відстані 1 см від краю смужки бляшками діаметром 10 мм сіють виділені культури. У одній чашці можна сіяти від 3 до 10 культур, одна з яких – контрольна – має бути свідомо токсигенною.

Оцінка результатів: Обрахування реакції проводять через 24 – 48 - 72 год. Якщо культура токсигенна, на деякій відстані від смужки паперу виникають лінії преципітату, що збігаються з лініями преципітату контрольної культури. Вони мають вигляд "стріл-вусиків", які добре видно у світлі, що проходить.



3. Вивчити та врахувати РА з сироватками крові від хворого Н., яка була поставлена для діагностики кашлюка.

Принцип. Розго [Рис. 1 Визначення токсигенності дифтерійних] ворого, яку розводять фізрозчино [чих титрах] сироватки можуть знаходитися нормальні аглютиніни, наявні у здорових людей або хворих з іншим діагнозом (**діагностичний титр**). Як антиген у цій реакції використовують діагностикуми - свідомо відомі суспензії, як правило, убитих бактерій, з якими безпечно працювати.

Реакцію проводять так. У аглютинаційні пробірки заздалегідь розливають по 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. У першу з них доливають 1 мл сироватки, розводять 1:100, і, змішавши її, 1 мл переносять у другу, з другої - в третю і так далі. У отримані двократні розведення сироваток (від 1:100 до 1:1600 і більше) вносять по 1-2 краплі суспензії бактерій, що містить 3 млрд мікробних тіл в 1 мл. Пробірки струшують і поміщають у термостат при 37°C на 2 години, потім добу витримують при кімнатній температурі.

Облік реакції розгорнутої аглютинації роблять, оцінюючи послідовно кожную пробірку, починаючи з контрольних, при обережному струшуванні. У контрольних пробірках аглютинації не повинно бути. Інтенсивність реакції аглютинації відмічають такими знаками: +++++ - повна аглютинація (пластівці аглютинату в абсолютній прозорій рідині); +++ - неповна аглютинація (пластівці в слабо опалесцювальній рідині); ++ - часткова аглютинація (пластівці чітко помітні, рідина злегка каламутна); + - слабка, сумнівна аглютинація - рідина дуже каламутна, пластівці в ній погано помітні; - - відсутність аглютинації (рідина рівномірно каламутна).

Титром сироватки вважають останнє її розведення, в якому інтенсивність аглютинації оцінюється не менше ніж двома плюсами (++) .

4. Вивчення та записати препарати для профілактики, лікування та діагностики дифтерії, кашлюку та паракашлюку інфекцій

5. Вивчити та занотувати мету та принцип проби Шика.

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____
Тема «Мікробіологічна діагностика туберкульозу та лепри»

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Туберкульоз та лепра: епідеміологія, патогенез, особливості імунітету, профілактика та лікування.
2. Мікробіологічна діагностика туберкульозу та лепри.
3. Препарати для діагностики, профілактики та лікування туберкульозу та лепри.

Туберкульоз — розповсюджене і у багатьох випадках летальне інфекційне захворювання. Спричинене різноманітними штамами мікобактерій, частіше за все *Mycobacterium tuberculosis*. Найчастіше уражає легені, також може впливати на інші частини тіла. Передається через повітря, коли люди з активним туберкульозом кашляють, чхають або іншим чином виділяють слину у повітря. Більшість інфекцій є асимптоматичними і латентними. Приблизно кожна 10-та латентна інфекція прогресує до активної хвороби. Якщо туберкульоз не лікувати — **убиває** більше 50% уражених людей.

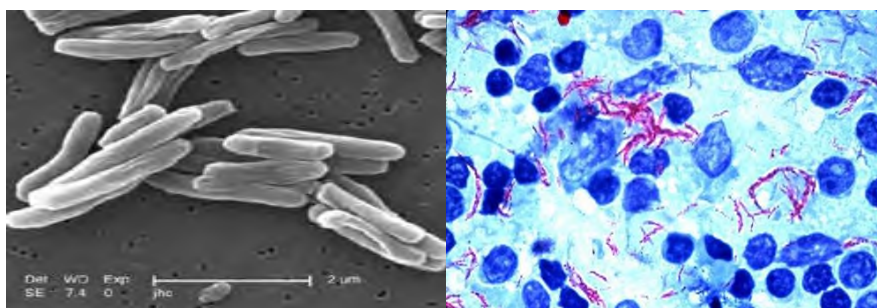
Класичними симптомами активної туберкульозної інфекції є хронічний кашель з кров'янистою мокротою, підвищеною температурою, нічною пітливістю і втратою ваги. Інфекція інших органів викликає широкий спектр симптомів. Діагностування активного туберкульозу покладається на радіологію (зазвичай рентгенографію грудної клітки), а також дослідження під мікроскопом мікробіологічної культури виділень організму. Діагностування латентного туберкульозу засноване на туберкуліновій пробі на шкірі та аналізах крові. Лікування складне і вимагає прийому декількох видів антибіотиків протягом тривалого часу. Соціальні контакти хворого також перевіряють і, за необхідності, лікують. Стійкість до антибіотиків є проблемою, що стає все більш серйозною у випадку мультирезистентного туберкульозу. Для попередження туберкульозу потрібно перевіряти людей на наявність хвороби та проводити вакцинацію за допомогою вакцини з бацилою Кальметта—Герена.

Експерти вважають, що третина населення Землі інфікована *M. tuberculosis*, а нові інфіковані з'являються зі швидкістю одна особа на секунду. У 2007 р. по всьому світу було приблизно 13,7 мільйонів хронічних хворих. У 2019 р. з'явилося приблизно 9,8 мільйонів нових хворих, а також сталося 1,5 мільйонів смертей, в основному в країнах, що розвиваються.

Mycobacterium tuberculosis, невелика аеробна нерухома, **кислотостійка бактерія**. Багато унікальних клінічних характеристик цього патогену пояснюються високим вмістом ліпідів. Мікобактерії мають подвійний ліпідний шар на зовнішній мембрані. **Фарбуються за методом Ціля-Нільсена.**

Морфологія

- Gr⁺ тонкі, злегка зігнуті поліморфні палички, тоді як *M. bovis* — короткі, товсті палички.
- довжина до 8 мкм, тоді як у *M. bovis* — до 2-3 мкм
- в клітинній стінці є високий вміст ненасичених жирних кислот (міколова кислота), ліпідів, восків (до 40 %)
- нерухомі, спор та капсул не утворюють
- в організмі хворого під дією ХТЗ можуть утворювати фільтрівні та L-форми
- в клітині при фарбуванні спостерігають тигроїдність — чергування кислотостійких (зерна Шпленгера) і некислотостійких ділянок (метафосфатні зерна Муха)



Культуральні властивості

- аероби або факультативні анаероби, оптимальна температура — 37°C, pH — 7,0-7,2
- вибагливі до поживних середовищ (потребують додавання вітамінів групи В, гліцерину, амінокислот).

На щільних середовищах поживних середовищах утворюють **R-форми** колоній — крихкі, бугристі, зморшкуваті кремового кольору, нагадують суцвіття цвітної капусти



На рідких середовищах утворюється суха, зморшкувата плівка, не змочується водою, піднімається на поверхню, бульйон прозорий.

Спеціальні поживні середовища: гліцеринові середовища (гліцериновий бульйон), картопляні середовища, ячні середовища (Левенштейна-Йенсена, Петрова, Петран'яні), напівсинтетичні та синтетичні середовища (середовище Сотона), середовище для виділення L-форм бактерій, середовище Прайса (цитратна кров).

МТБ є стійкою до дезінфікуючих засобів і може існувати в сухому стані протягом кількох тижнів. У природі бактерія росте тільки в клітинах організму хазяїна, але **вибагливу** культуру *M. tuberculosis* можна виростити і штучно в лабораторії на 30-40 день. Існують два

найбільш розповсюджені методи кислотостійкого забарвлення: фарбування за Ціль-Нельсеном, у результаті якого КСБ набуває яскраво-червоного кольору, чітко видимого на блакитному фоні, та аураміново-родамінове плямування, після якого зразок вивчають під флуоресцентним мікроскопом.

Шляхи передачі : аерозольно. Коли люди з активним пульмонарним туберкульозом кашляють, чхають, розмовляють, співають або плюють, вони виділяють у повітря інфіковані аерозольні краплі діаметром від 0,5 до 5 мкм. Людина з активним туберкульозом, що не лікується, може інфікувати 10-15 (або більше) осіб на рік.

Фактори патогенності обумовлені структурними компонентами клітини, **Cord-фактором** (диміколат трегалози), який пригнічує міграцію лейкоцитів, антифагоцитарний фактор, має місцеву токсичну дію. Його виявляють за допомогою **методів Прайса** та Школьнікової — мазки поміщають у цитратну кров, через 3-4 доби скельця виймають, фарбують за Цілем-Нільсеном, виявляють мікроколонії у вигляді кіс або джгутів.



- **Ендотоксин (туберкулін): Має 3 фракції:**

1. протеїнова — зумовлює розвиток ГЧУТ
2. ліпідна — зумовлює незавершений фагоцитоз, сприяє утворенню сироподібного некрозу, гігантських клітин **Пирогова-Ланганса**. До фракції входять жирні кислоти, фосфатиди, сульфатиди
3. полісахаридна — сприяє утворенню лімфоцитарного валу.

Патогенез. Приблизно 90% людей, інфікованих бацилою *M. tuberculosis*, мають асимптоматичні, латентні туберкульозні інфекції (іноді їх називають ЛТБІ). Туберкульозна інфекція починається, коли мікобактерії досягають пульмонарних альвеол, де вони втручаються в ендосоми альвеолярних макрофагів і розмножуються в них. Первинне місце інфікування в легенях, також відоме як «**вогнище Гона**», розташоване у верхній частині нижньої долі або у нижній частині верхньої долі. Туберкульоз легенів також може розвиватися через отримання інфекції з кровотоку, що має **назву вогнище Симона**. Інфекція типу «вогнище Симона» зазвичай спостерігається у верхній частині легенів. Така гематогенна передача також може розповсюджувати інфекцію до більш віддалених ділянок, таких як периферійні лімфовузли, нирки, мозок та кістки. Туберкульоз уражає всі частини тіла, хоча з невідомих причин він рідко вражає серце, скелетні м'язи, підшлункову, або щитоподібну залозу. Багатьох людей ця інфекція виснажує, і вони згасають. Руйнування тканин і некроз часто балансуються заживанням і фіброзом. Вражена тканина замінюється рубцевою та порожнинами, заповненими казеозним некротичним матеріалом. Протягом активної стадії хвороби деякі з цих порожнин об'єднуються з повітряними шляхами бронхів, і цей матеріал може викашлюватися. Він містить живі бактерії і може розповсюджувати інфекцію. Лікування відповідними антибіотиками вбиває бактерії і

дозволяє настати одужанню. Після вилікування хвороби уражені ділянки замінюються рубцевою тканиною.

Для запобігання та контролю туберкульозу у дітей необхідно робити щеплення, вчасно виявляти випадки захворювання та надавати необхідне лікування. Станом на 2011 рік єдиною наявною вакциною була **бацила Кальметта-Герена (БЦЖ)**.

Імунітет – нестійкий, нестерильний, клітинний, антитіла виробляються в низьких титрах і не мають протективного значення (АТ-свідки), формується стан ГЧСТ (обмежує розмноження бактерій, фіксує їх у вогнищі запалення) — виявляють за допомогою алергічних реакцій.

Лабораторна діагностика. Матеріал для дослідження: харкотиння, ексудат з плевральної порожнини, асцитична рідина, випорожнення, сеча, спинномозкова рідина, кров.

Мікроскопічний метод

Основні переваги: простота, легкість виконання, доступність для будь-якого типу лабораторій

- Недолік: недостатня інформативність
- Матеріал піддають збагаченню, фарбують за Цілем-Нільсеном.
- Результативніший метод — РІФ

Бактеріологічний метод

- Переваги: дозволяє виділити чисту культуру збудника, ідентифікувати її, визначити вірулентність та чутливість до ХТЗ
- Недолік: отримання результату через 3-4 тижні (до 12 тижнів)

1 етап — матеріал обробляють сірчаною кислотою, висівають на спеціальні середовища 2 етап — вивчення культуральних та ферментативних властивостей

— ніациновий тест — визначають здатність з ніацину синтезувати нікотинову кислоту (*M.tuberculosis* (+), *M.bovis* (-)

— метод Прайса, Школьнікової

Біологічний метод

- матеріал вводять в пахвинну ділянку:
 - кролю (чутливі до *M. bovis*)
 - морській свинці (чутливі до *M. tuberculosis*)
- через 1,5-2 тижні збільшуються лімфатичні вузли, некроз в місці введення
- через 3-6 тижнів тварини гинуть від генералізованої інфекції (після розтину в мазках виявляють збудника, у внутрішніх органах — туберкульозні гранульоми)

Серологічний метод

- використовують для діагностики ранніх та прихованих форм, позалегенових, закритих легенових форм
- недолік: низька специфічність антитіл, часті хибно-позитивні результати
- РЗК, РНГА

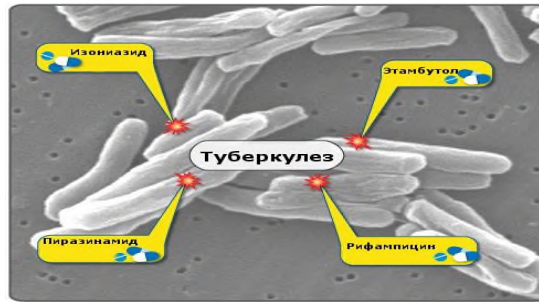
Алергічний метод

- оснований на постановці внутрішньошкірної **проби Манту**. Використовують для:
 - визначення рівня поствакцинального імунітету;
 - визначення категорій, які підлягають ревакцинації
 - діагностики і виявлення тубінфікованих осіб
 - діагностики захворювання

Лікування. Для лікування туберкульозу використовують антибіотики, щоб нейтралізувати бактерії. Через незвичайну структуру та хімічний склад стінки клітини мікобактерії важко підібрати ефективне лікування туберкульозу. Протитуберкульозні препарати ділять на 2 групи: першого ряду (похідні ізонікотинової кислоти, ПАСК, солі стрептоміцину, етамбутол, рифампіцин); другого ряду (альтернативні) — циклосерин, канаміцин, етіонамід тощо. Препарати призначають тривалими курсами, одночасно по декілька препаратів.

Профілактика: неспецифічна, специфічна — проводять згідно з календарем щеплень — на 3-5 добу після народження; в 7, 12, 17, 22, 27-30 — при негативній реакції Манту

використовують живу вакцину БЦЖ (BCG — Bacille Calmette et de Guerin)- одержана в 1921 році.



Стінка клітини не пропускає антибіотики усередину, внаслідок чого антибіотики стають неефективними. Ізоніазид та рифампіцин — це два антибіотики, які призначають хворим найчастіше; таке лікування може тривати протягом кількох місяців.

Пошук дієвих вакцин. У вакцини БЦЖ є багато обмежень, тому дослідження з винаходу нової вакцини від туберкульозу продовжуються. Кілька потенційних вакцин на даний момент знаходяться на стадії першої та другої фази клінічних випробувань. Існує два основні способи поліпшення ефективності існуючих вакцин. Перший полягає у додаванні субодиниці вакцини до БЦЖ. Іншим способом є винахід нової та кращої живої вакцини. MVA85A є прикладом субодиниці вакцини, яка зараз проходить випробування у Південній Африці. Вакцина MVA85A створена на основі генетично модифікованого вірусу вісповакцини. Є надія на те, що вакцини будуть відігравати важливу роль у лікуванні латентної та активної хвороби. Щоб стимулювати подальші відкриття, дослідники та політики підтримують нові економічні моделі для розроблення вакцин, які полягають в отриманні нагород, податкових пільг та зобов'язань майбутніх закупівель. Декілька груп займаються розробками, в тому числі Товариство подолання туберкульозу, Південно-Африканська програма з розробки вакцини від туберкульозу та Всесвітній фонд «Аерас» з розробки вакцини від туберкульозу. Всесвітній фонд «Аерас» з розробки вакцини від туберкульозу отримав пожертвування від Фонду Білла і Мелінди Гейтс у розмірі 280 мільйонів доларів США для розробки та реєстрації поліпшеної вакцини від туберкульозу для застосування у країнах з високим рівнем захворюваності.

Лéпра, хвороба Гансена — інфекційна хвороба з хронічним перебігом, спричинена мікобактеріями лепри. Перебігає з переважним ураженням шкіри, периферійної нервової системи, іноді переднього відрізка ока, верхніх дихальних шляхів вище гортані, ясчок, а також кисті та стопи.



Збудник лепри — бацила Гансена (*Mycobacterium Leprae*) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у Давньому Єгипті, на Близькому Сході, у Китаї, Японії, Індії ще до н. е. Загальна кількість хворих на земній кулі — декілька млн чоловік (за даними 1974 р., приблизно 10 млн). Зустрічається на всіх континентах, найпоширеніша у країнах Африки, Азії, Центральної та Південної Америки. Погане харчування, авітамінози, антисанітарія, скупчення великої кількості населення у одному місці сприяє зараженню, ймовірність якого збільшується пропорційно до тривалості контакту з хворим.

Зараження відбувається шляхом передачі від людини до людини внаслідок тривалого контакту. Інкубаційний період може тривати до 10 років та більше. Вважають, що збудник проникає до організму людини через пошкоджену шкіру та слизові оболонки верхніх дихальних шляхів.

Розрізняють три основні типи лепри:

- лепроматозний;
- туберкулоїдний;
- недиференційований (невизначений).

Лепроматозний тип — найтяжча форма, при якій уражується багато органів та тканин (шкіра, слизові, лімфатичні вузли, нервові стовбури, внутрішні органи).

Шкірні прояви відмічаються в зоні обличчя, верхніх та нижніх кінцівок (частіше на внутрішній поверхні). Процес починається з появи плямистих висипань червоно-бурого кольору, пізніше з жовтуватим відтінком, які потім перетворюються у бугристі вузли. Вони щільноеластичної консистенції, синюшно-коричневого кольору, розміром у лісовий горіх, з

блискучою сальною поверхнею, без волосся та будь-якої чутливості. Шкіра між інфільтратами потовщена. Характерним для лепри є випадіння зовнішньої третини брів. Висипання (лепроми), розташовуючись на обличчі, сильно спотворюють хворого, надаючи вигляд «лев'ячої морди». Лепроми можуть існувати місяцями й навіть роками з наступним фіброзним перетворенням у рубцеву атрофію з пігментацією або розпадом та появою виразок. У збільшених лімфатичних вузлах та лепромах виявляють мікобактерії. Часто першими симптомами хвороби є закладеність носа, носові кровотечі, утруднене дихання. Можлива повна непрохідність носових шляхів, ларингіт, охриплість. Перфорація носової перегородки та деформація хрящів призводить до западання носа (сідлоподібний ніс).



Для пізніх стадій захворювання характерні гіпостезія периферичних відділів кінцівок.

Туберкулоїдний тип — процес, який протікає відносно доброякісно, при ньому уражуються переважно шкіра та нервові закінчення. На шкірі виникають плямисті елементи; з боку нервової система відмічаються поліневрити, атрофії м'язів, контрактури, трофічні виразки. Починається появою чітко окресленого гіпопігментованої плями, у межах якої відмічається гіперестезія. У подальшому пляма збільшується, її краї піднімаються, стають схожі на валик із кільцеподібним або спіралеподібним малюнком. Центральна частина атрофується та западає. Ураження нервів призводить до атрофії м'язів; особливо страждають м'язи кисті. Травми та стискання призводять до інфекцій кистей та стоп, на підшвах утворюються нейротрофічні виразки. У подальшому можлива мутиляція фаланг.

Недиференційований тип займає проміжне положення між лепроматозним та туберкулоїдним типом лепри та може переходити в один з них. Характеризується переважним ураженням шкіри та нервової системи. Для нього характерна переважно неврологічна симптоматика з симетричним ураженням ліктьових, великих вушних, малогомілкових та ін. нервів, які потовщені та викликають болісні відчуття. Порушення чутливості, можливі рухові та трофічні розлади (облісіння, атрофія нігтьових пластинок тощо).

Для **діагностики** лепри, окрім бактеріоскопічних досліджень та врахування епідеміологічних даних, має значення ряд діагностичних тестів (визначення чутливості, гістамінова проба, лепромінова проба, проба на потовиділення і т. д.).

Лікування прокази потребує участі багатьох спеціалістів. Хворі підлягають негайній госпіталізації у лепрозорії, де створюються умови, наближені до домашніх, та призначається відповідне лікування. Протилепрозна терапія здійснюється за допомогою дапсону, рифампіцину, клофазиміну; останнім часом виявлена протилепрозна активність міноцикліну, офлоксацину та кларитроміцину.

Практична робота

1. Приготувати з вакцини БЦЖ фіксований препарат та пофарбувати його за методом Ціля-Нільсена.

Фарбування кислотостійких бактерій

На відміну від інших бактерій мікобактерії здатні утримувати барвники навіть після обробки кислотами. Тому вони і називаються кислотостійкими. При прогріванні мазків з мікобактеріями над полум'ям підвищується проникність клітинної стінки для барвників (метод Ціля-Нільсена).

Процедура фарбування кислотостійких бактерій

1. На фіксований препарат накладають смужку фільтрувального паперу розміром трохи менше предметного скла, але так, щоб вона закривала мазок повністю (див. мал.). Фільтрувальний папір використовують для того, щоб фарба не розливалася по склу. Одночасно за рахунок використання фільтрувального паперу запобігається можливе осадження кристалів фарби на мазок.

2. Наливають на папір розчин карболового фуксину (препарат повинен бути гарно змочений) і нагрівають препарат над полум'ям пальника до появи легкої хмаринки пари, не допускаючи закипання фарби і підсихання паперу. Об'єм фарбувального розчину має бути достатнім для того, щоб його повторно не наносити на вже розігрітий мазок. У випадку висихання мазка і повторного нанесення барвника нагрівайте мазок до появи пари повторно.

3. Мазок залишають на 5 хвилин з барвником, щоб він проник в клітинну стінку мікобактерій і зафарбував її.

4. Пінцетом обережно знімають фільтрувальний папір і обережно(!) змивають залишки фарби слабким струменем води.

5. Після цього мазок знебарвлюють 25% розчином сірчаної кислоти чи 3% соляно-кислим спиртом, домагаючись візуального ефекту повного знебарвлення. Тривалість процедури знебарвлення - 3 хвилини.

6. Мазок промивають проточною водою.

7. Мазок дофарбовують 0,3% розчином метиленового синього впродовж 60 секунд.

8. Мазок промивають проточною водою.

9. Мазок висушують при кімнатній температурі у вертикальному положенні.

2. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів.

<i>M. tuberculosis</i> у харкотинні хворого, фарбування за методом Ціля-Нільсена	<i>M. leprae</i> у матеріалі від хворого, фарбування за методом Ціля-Нільсена	Чиста культура <i>M. avium</i> , фарбування за методом Грама
Рисунок		

30 хв. Згубно діють на збудника туляремії і стандартні дезрозчини. *F. tularensis* — внутрішньоклітинний паразит. Він має низку чинників, які сприяють проникненню у фагоцит, пригнічуючи його кілерну активність, і розмноженню в інфікованій клітині (Vi-антигени, нейрамінідаза, ендотоксини тощо).

Для туляремії як однієї з природно-осередкових зоонозних інфекцій характерна триада біоценозу: збудник, резервуари збудника, переносники — кровосисні комахи. Основним джерелом інфекції в природі є гризуни. Серед свійських тварин джерелами можуть бути вівці, свині, велика рогата худоба. Загалом більше 80 видів різних тварин є резервуаром цієї інфекції. Не відомо випадків зараження людей від хворої людини.

Механізм і фактори передачі

Для туляремії характерна множинність механізмів передавання інфекції людям: **контактний** — при контакті з хворими гризунами або їх виділеннями; **аліментарний** — при вживанні харчових продуктів і води, забруднених виділеннями гризунів; **аерогенний** (повітряно-пиловий) — при обробці інфікованих зернових продуктів, фуражу; **трансмівний** — інокуляція збудника кровосисними комахами (іксодові та гамазові кліщі, гедзі, комарі, блохи, жалячі мухи). Для аерогенної передачі вистачає лише 50 бактерій, тоді як для контактної — не менше 10^6 мікробів. Існує сезонність захворювання туляремією — у залежності від способу зараження (наприклад, навесні серед мисливців). Сприйнятливість до туляремії висока. Після перенесеної інфекції формується **стійкий імунітет**.



Патогенез. Для проникнення *F. tularensis* через шкіру людини достатньо подряпини, садна або іншої мікротравми. Збудник легко проникає через слизову оболонку очей, дихальних шляхів і травного тракту. Розвиток клінічної форми у значній мірі залежить не лише від місця інокуляції збудника, але й від його вірулентності, інфікуючої дози, неспецифічної та імунологічної резистентності макроорганізму. Туляремійні бактерії, стійкі до фагоцитозу, по лімфатичних капілярах заносяться в регіонарні лімфовузли, де інтенсивно розмножуються, зумовлюючи запальну реакцію тканин і утворення первинних бубонів. При загибелі мікробів звільняється ендотоксин, проникнення якого в кров зумовлює загальну інтоксикацію організму. Якщо бар'єрна функція лімфовузлів недостатня, розвивається бактеріємія. З током крові мікроби проникають у паренхіматозні органи, спричиняючи їх ураження. Паралельно відбувається алергізація організму, яка суттєво впливає на перебіг хвороби та її клінічні прояви.



Первинне пошкодження здебільшого локалізується на кистях, обличчі, а також на слизовій оболонці рота і глотки. На місці проникнення інфекції з'являється папула. Розмір папули швидко збільшується і досягає 1-2 см в діаметрі. Папула швидко перетворюється у пустулу, яка може раптово лопнути, і на цьому місці утворюється надзвичайно болюча виразка. Середня тривалість інкубаційного періоду при туляремії становить 3-5 днів з коливанням від 3 до 21 дня. При будь-якій клінічній формі в середньотяжких і тяжких випадках початок хвороби гострий з ознобу і підвищення температури тіла до 38-40°C. Хворі скаржаться на головний та м'язовий біль, запаморочення, зменшення апетиту, розлади сну, нездужання. Можливе блювання, носові кровотечі. Хворі часто ейфоричні, нерідко виникає марення. Обличчя і кон'юнктиви гіперемовані. На слизовій оболонці м'якого і твердого піднебіння виявляють точкову енантему.

Бактеріологічні дослідження проводять у спеціальних лабораторіях. Матеріал від хворих (кров, пунктат бубону, виділення з виразки на шкірі, кон'юнктиви, наліт з мигдаликів, харкотиння, кров) по можливості відбирають у перші дні хвороби, до застосування антибіотиків, висівають на жовткові або кров'яні середовища. Виділену культуру ідентифікують за морфологічними та антигенними властивостями.

Біологічна проба проводиться зараженням тварин пунктатом з бубону, через 3-4 дні вони гинуть. З органів загиблих тварин роблять мазки, виявляють збудника.

Серологічні дослідження. Реакція аглютинації з використанням туляремійного діагностикуму (аглютиніни з'являються у крові хворого до 10-го дня захворювання, діагностичний титр 1:100 і вище),

РПГА (дозволяє виявити специфічні антитіла вже в кінці 1-го тижня захворювання),

ІФА (виявлення антитіл класу IgM і IgG); Однак у ряді випадків можуть бути несправжньо-негативні та несправжньо-позитивні результати через наявність перехресних зв'язків туляремійних збудників з сальмонелами, бруцелами, ерсиніями, леґіонелами.

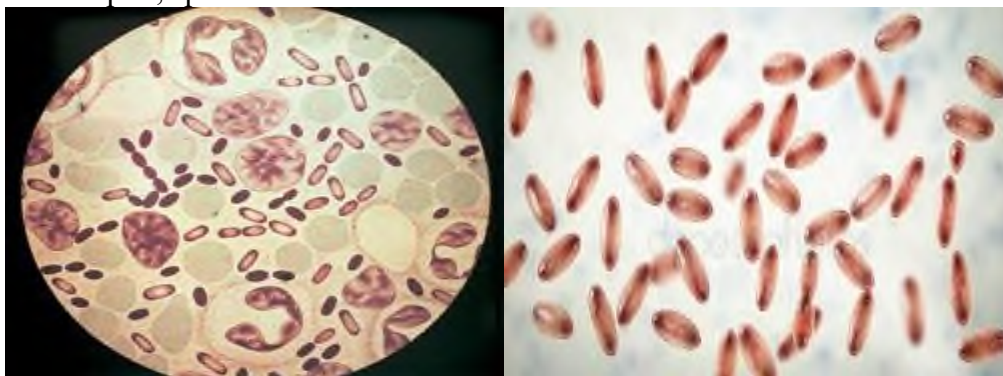
Перспективною вважають ПЛР.

Шкірно-алергічна проба з тулярином.

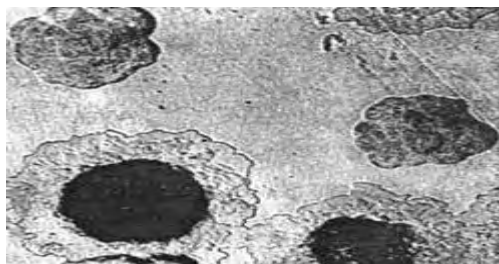
Лікування. Призначають згідно рекомендацій ВООЗ стрептоміцин, гентаміцин, доксицикліну (левоміцетину) фторхінолони і цефалоспорини. У лікуванні затяжних і хронічних форм застосовують антибіотики в комбінації зі специфічною вбитою вакциною.

Чума (заст. *морвіця*) — зоонозна природно-осередкова бактеріальна інфекційна хвороба, що характеризується гарячкою, тяжкою інтоксикацією, геморагічним синдромом, серозно-геморагічним ураженням легень, лімфатичної системи з утворенням бубонів, нерідким септичним перебігом і високою летальністю. При виникненні серед людей здатна до швидкого епідемічного поширення. Легкість зараження людей багатьма механізмами передавання, швидкість поширення, тяжкий перебіг, висока летальність — особливості, які дозволяють віднести чуму до тих інфекційних захворювань, які виявили здатність чинити серйозний вплив на здоров'я населення і можуть швидко поширюватися в міжнародних масштабах та увійшли до переліку подій, які можуть уявляти надзвичайну ситуацію в галузі охорони здоров'я.

Збудник чуми *Yersinia pestis* належить до роду *Yersinia*, родини *Enterobacteriaceae*. *Y. pestis* — паличкоподібна бактерія овоїдної форми, забарвлюється біполярно, грамнегативна.



Спор не утворює, нерухома, має капсулу. Добре росте на простих поживних середовищах (м'ясо—пептонному бульйоні, м'ясо—пептонному агарі при рН 7,0—7,2), температурний оптимум 18—22°C в **R формі (мереживна хустинка)**.



Y. Pestis стійка в навколишньому середовищі, добре переносить низькі температури, протягом багатьох місяців зберігає життєвий потенціал у прохолодних сирих умовах, в таких, як ґрунт звіриних нір. Збудник чуми може зберігатися у ґрунті та воді до 9 місяців, трупах — до 6 міс., вмісті бубонів — до 4 міс., не стійкий до висушування. При температурі 55°C гине протягом 10—15 хв., тривалий час зберігається у мокротинні. Дезінфектанти, що використовуються в стандартних концентраціях, мають надійну бактерицидну дію проти неї.

Механізми і шляхи інфікування: Трансмісивний. При чумі він є основним механізмом передачі інфекції — реалізується через бліх *Xenopsylla cheopis*, що живуть на гризунах.



У блохи після зараження кров'ю інфікованого гризуна чумний мікроб розмножується в травній системі комахи, надалі формується «чумний блок», коли мікроби накопичуються та заповнюють просвіт травної трубки. При новому смоктанні крові блоха зригує мікроорганізми, що накопичилися, і таким чином відбувається зараження іншого гризуна або людини. Блоха після зараження стає заразною приблизно через 5 днів і може зберігати в собі збудника більше року.

Аліментарний. Зараження можливе також внаслідок полювання на тварин для вживання їх м'яса в їжу (байбаки, тарбагани, сайгаки). Споживання в їжу недостатньо термічно обробленого м'яса тварини може призводити до аліментарного зараження людини чумою.

Контактний. Реалізується при знятті шкурки з цінним хутром деяких видів гризунів (тарбагане хутро застосовується для виготовлення хутряних шапок), забої тварини, що хвора на чуму, білування її туші, зняття шерсті у верблюдів тощо.

Аерогенний (повітряно-крапельний). Особливу небезпеку для оточуючих являє людина, хвора на легеневу форму чуми, внаслідок передавання збудника повітряно-крапельним шляхом. Можливість такої передачі покладена в основу застосування чуми як біологічної зброї, коли зараження великих людських контингентів можливе внаслідок розпилювання у повітрі аерозолі, що містить цього збудника. Збудник чуми є найперспективнішим для застосування як агента біозброї. При інших клінічних формах чуми у людей контагіозність хворих значно нижча. Рідко можлива аерогенна передача від хворих собак і котів, у яких чумою уражені легені.

Патогенез. *Yersinia pestis* відома як одна з найбільш інвазивних бактерій. Адаптаційні механізми людини практично не пристосовані чинити опір проникненню та

розвитку *Y. pestis* в організмі. Це пояснюється тим, що чумна паличка дуже швидко розмножується і у великій кількості виробляє фактори проникності (нейрамінідаза, фібринолізин, коагулаза та ін.), антифагіни, що пригнічують фагоцитоз, фактори, що гнітять продукцію ендogenous γ -інтерферону, протеазу, яка активує плазміноген і руйнує комплемент. Все це сприяє швидкому і масивному, лімфогенному й гематогенному дисемінуванню насамперед до органів системи моноклеарних фагоцитів (СМФ) з подальшою активізацією макрофагів. Важливу роль у патогенезі септичної чуми і синдрому внутрішньосудинного згортання (ДВЗ-синдрому) грає ендотоксин (ліпополісахарид). Масивна антигенемія, викид медіаторів запалення, у тому числі і шокогенних цитокінів, веде до розвитку мікроциркуляторних порушень, ДВЗ-синдрому з подальшим розвитком інфекційно-токсичного шоку (ІТШ). Клінічну картину захворювання багато в чому визначає механізм передачі і місце проникнення збудника. Схема патогенезу чуми включає три стадії.

Лімфогенна дисемінація

Спочатку збудник від місця інокуляції лімфогенно проникає в регіонарні лімфатичні вузли, де короткочасно затримується. При цьому утворюється первинний чумний бубон з розвитком запальних, геморагічних і некротичних змін у лімфатичних вузлах. Бубони досягають 5—8 см у діаметрі, при цьому лімфатичні вузли спаяні між собою, тістуватої консистенції, нерухомі, на розрізі темно-червоного кольору, з вогнищами некрозу. Тканина навколо бубону набрякла. Як реакція на некроз розвиваються гнійне запалення і розплавлення тканини лімфатичного вузла, з'являються виразки. При подальшому лімфогенному поширенні з'являються нові бубони другого, третього порядку, де відзначаються ті ж морфологічні зміни, що і в первинному. Іноді при первинній інокуляції чумних мікробів до шкіри крім бубону, розвиваються зміни у місці самого зараження (там де був укус блохи чи нанесене інше ушкодження шкіри, куди потрапив збудник), тобто розвивається первинний афект. Він представлений «чумною флікеною» (пухир з серозно-геморагічним вмістом) або чумним геморагічним карбункулом. Між первинним афектом і бубоном з'являється лімфангіт. На місці карбункула відзначаються набряк, ущільнення шкіри, яка стає темно—червоною; на розрізі видно кров'янисте просякання всіх шарів шкіри, вогнища некрозу, оточені скупченнями лейкоцитів. Надалі карбункул покривається виразками. Розвивається септицемія з тими ж змінами в органах, що і при бубонній формі чуми. При аліментарному зараженні бубон формується у мезентеріальних лімфатичних вузлах.

Гематогенна дисемінація

Поширення веде до швидкого розвитку чумної бактеріємії і септицемії, які проявляються висипом, множинними геморагіями, гематогенним ураженням лімфатичних вузлів, селезінки, вторинною чумною пневмонією, дистрофією і некрозом паренхіматозних органів. У стадії бактеріємії розвиваються найсильніший токсикоз, зміни реологічних властивостей крові, порушення мікроциркуляції і геморагічні прояви у різних органах. Мікроциркуляторні порушення зумовлюють зміни у серцевому м'язі й кровоносних судинах, а також у надниркових залозах, що обумовлює гостру серцево—судинну недостатність (ГССН). Селезінка септична, різко збільшена (в 2—4 рази), в'яла, дає значний зішкребок пульпи, з вогнищами некрозу і лейкоцитарною реакцією на некроз.

Генералізація

Призводить до вторинної чумної пневмонії, що розвивається в результаті гематогенного (емболічного) занесення інфекції, має вогнищевий характер. У легенях у зв'язку з серозно-геморагічним запаленням з'являється безліч темно-червоних вогнищ з ділянками некрозу, де можна знайти дуже багато збудників. Таким способом відбувається ураження мозку та мозкових оболонок. Антитільна відповідь при чумі слабка і формується в пізні терміни захворювання. Значення у видужанні і подальшому захисті від нових заражень має клітинний імунітет.

Клінічні прояви

Загальні ознаки. Інкубаційний період триває в середньому 3—6 днів, але іноді від декількох годин до 10 днів. Більше 6 днів зустрічається при виникненні чуми у вакцинованих. Захворювання в тяжких випадках починається раптово, з потрясаючого ознобу і підвищення температури тіла до 39,5—40°C. З перших годин захворювання хворі відчувають сильний головний біль, млявість, запаморочення, біль у м'язах. Обличчя одутле, гіперемоване, очі червоні, внаслідок ін'єкції судин кон'юнктив. При тяжкому перебігу хвороби риси обличчя загострюються, з'являється ціаноз, темні кола під очима, вираз страждання і жаху (*facies pestica*).



Язик набряклий, сухий, з тріщинами, вкритий товстим шаром білого нальоту (ніби «натертий крейдою» або «білий порцеляновий»), збільшений у розмірах. Піднебінні мигдалини також збільшені, набряклі, з виразками. Внаслідок сухості слизової порожнини рота, потовщення і сухості язика, вимова хворих стає незрозумілою, невиразною. На шкірі можливі петехіальні висипання. Пульс частий (до 120—140 за хв.), слабого наповнення, часто аритмічний, іноді ниткоподібний. Тони серця глухі, межі розширені. Артеріальний тиск падає, нерідко настає колапс, виникає ІТШ. Виражена задишка. Живіт здутий, болючий, збільшені печінка і селезінка. У тяжких випадках можлива кривава блювота, рідкі випорожнення з домішками слизу і крові. Зменшується діурез. Уражається ЦНС, внаслідок чого змінюється поведінка хворого. З'являються занепокоєння, метушливість, зайва рухливість, тремор язика. Мова стає невиразною, хода хиткою. Порушується координація рухів. Іноді оточуючі сприймають такого хворого як п'яного. Вже у першу добу хвороби нерідко затьмарюється свідомість, з'являються марення, галюцинації. При легкому та середньо-тяжкому перебігу відповідно рівень гарячки та інтоксикації менший. На фоні цих загальних проявів чуми розвиваються ураження, притаманні різним клінічним формам.

Бубонна форма виникає найчастіше (80 % випадків захворювань на чуму), супроводжується розвитком лімфаденіту. Хвороба починається гостро з підвищення температури тіла до 39,5—40 °C і сильного локального болю в місці утворення бубону. Цей біль утруднює рухи і змушує хворого обмежувати їх, приймати сковану позу. Найчастіше уражуються пахові, стегнові та пахвинні лімфовузли, що зумовлено частою інокуляцією збудника в нижні та верхні кінцівки, більш доступні для укусу блохи.



У процес втягується уся топографо—анатомічна група лімфовузлів і оточуючі їх тканини. Лімфатичні вузли збільшуються у розмірах, спочатку вони контуруються, виступають над шкірою, при пальпації болючі. Шкіра над бубоном гаряча на дотик,

натягується, блищить, червоніє, згодом стає багряно—синюшною. Поступово розвивається набряк підшкірної клітковини і периаденіт, внаслідок чого лімфатичні вузли зливаються у суцільний конгломерат. Сформований бубон не має чітких контурів, нерухомий, різко болючий при пальпації. В центрі бубону пальпують хрящеподібне утворення, по периферії — м'який набряк. Розміри бубону 1—10 см у діаметрі. Лімфангіт відсутній. Завершення бубону різне — розсмоктування, нагноєння, склерозування. Досить часто на 6—8-й день хвороби бубон може нагноюватися. Шкіра над ним набуває синьо-бурого кольору і стає тонкою, в центрі з'являється флуктуація, згодом утворюється нориця, через яку виділяється гнійно—кров'яниста рідина. Зворотній процес у бубоні триває 3—4 тижні. З моменту розкриття бубону стан хворого покращується. Якщо своєчасно розпочата антибактеріальна терапія, настає повне розсмоктування або склерозування бубону. Найбільш тяжкий перебіг мають бубони, розташовані в ділянці шії. Пахвові бубони через загрозу прориву до легень являють небезпеку розвитку легеневої форми. У разі подолання збудником лімфатичного бар'єру він потрапляє у загальний кровотік і зумовлює генералізацію інфекційного процесу з утворенням вогнищ інфекції у внутрішніх органах. Тоді розвиваються інші клінічні форми чуми.

Легенева форма як при первинному ураженні, так і при вторинному має подібний клінічний перебіг. Легеневе ураження при чумі є найбільш небезпечним як в епідеміологічному плані, так і в клінічному відношенні. Хвороба характеризується надзвичайно тяжким перебігом і високою летальністю. Інкубаційний період скорочується до декількох годин, але не більше 2 днів. Початок раптовий, з швидкого підвищення температури до 39,5—40°C і вище, що супроводжується ознобом, нестерпним головним болем, блюванням. Уже з перших годин захворювання з'являється різкий біль у грудях, кашель, задишка, марення. Кашель спочатку сухий, але дуже швидко стає вологим, з виділенням слизового прозорого мокротиння. Згодом воно стає рідким, пінистим, кров'янистим і потім кровавим. Кількість мокротиння варіює від кількох пльовків («суха чума») до великої кількості (400—500 мл і більше на добу). Швидко наростає задишка, тахікардія (пульс 120—140 за хв.). З боку легень у цей період фізикальні дані не відповідають тяжкому стану хворого.

Септична форма зустрічається рідко, переважно у осіб старше 60 років. Уже з перших годин хвороби з'являються ознаки ІТШ, який і є причиною смерті хворого. Інкубаційний період триває кілька годин. Розвиток хвороби бурхливий. Початок раптовий, швидко потьмарюється свідомість, з'являються збудження, дезорієнтація, невиразна мова, тремор язика, рук, хитка хода. Обличчя одутле, гіперемоване. Швидко прогресують симптоми хвороби.



Бубони не встигають утворитися. Через декілька годин від початку захворювання на фоні надзвичайно тяжкої інтоксикації розвивається геморагічний синдром з масивними крововиливами у шкіру і слизові оболонки. З'являються носові, легеневі, маткові кровотечі, кривава блювота, кров у випорожненнях, макрогематурія. Хворі гинуть протягом 1—4 діб.

Методи ранньої діагностики

- **Експрес—діагностика** — РІФ (виявлення антигену збудника в матеріалі) — результат отримують через 15 хв.; Бактеріоскопічний — виявлення у мазку овоїдної грамнегативної палички, біполярно зафарбованої, дає підставу для попереднього діагнозу чуми. Результат отримують через 1—2 год.;

Методи заключної діагностики

- Бактеріологічний — матеріал для дослідження визначається клінічною формою (пунктат бубонів, вміст везикул, пустул, виразок, матеріал із ротоглотки, взятий мазком, харкотиння, випорожнення, кров, сеча, блювота, секційний матеріал), проводиться посів на елективні середовища.
- Біологічний — проводять зараження білих мишей та морських свинок:

Методи ретроспективної діагностики

- Алергічний — шкірно-алергічна проба з пестино (на людях практично не проводиться);
- Серологічний — виявлення антитіл в РПГА, РГПГА, РНАг, РНАт, ІФА з моно- чи поліклональними антитілами.

Лікування. Хворі на чуму підлягають обов'язковій негайній госпіталізації у спеціалізовані стаціонари, які працюють у суворому протиепідемічному режимі. При підозрі на чуму негайно розпочинають етіотропну терапію без очікування результатів лабораторного підтвердження.

Специфічна профілактика проводиться живою атенуйованою вакциною (штам EV, вводиться внутрішкірно, підшкірно, на шкірно) та пероральною таблетованою вакциною. Ведуться перспективні генно—інженерні експерименти з створення вакцини, заснованої на антифагоцитарних антигенах чумної палички — F1 і VW, але вакцинація, заснована на цих антигенах, поки що теж не дає достатньо повного захисту і спричиняє побічні впливи^[25].

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів.

<i>Yersinia pestis</i> у мазку-відбитку, фарбування за методом Грама	<i>Francisella tularensis</i> у мазку-відбитку, фарбування за методом Леффлера
Рисунок	

2. Вивчити та записати препарати для профілактики, лікування та діагностики туляремії та чуми _____

Підпис викладача _____

Тема «Мікробіологічна діагностика бруцельозу та сибірки»

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Бруцельоз та сибірка: епідеміологія, патогенез, особливості імунітету, профілактика та лікування.
2. Мікробіологічна діагностика бруцельозу та сибірки.
3. Препарати для діагностики, профілактики та лікування бруцельозу та сибірки.

Бруцельоз - захворювання, характеризується ураженням опорно-рухового апарату, нервової, статевої та інших систем. Це один з найпоширених зоонозів у світі — лише 17 країн (зокрема Канада, Ірландія) сповістили ВООЗ про те, що на їх території бруцельоз відсутній. Близько 500 тисяч випадків бруцельозу у людей щорічно реєструється в світі. Проблема бруцельозу протягом багатьох років залишається актуальною для сільського господарства й охорони здоров'я. Висока чутливість до бруцельозу майже всіх сільськогосподарських тварин, легкість інфікування утруднюють серед них контроль за цією інфекцією. Соціально-економічна значимість проблеми бруцельозу визначається особливостями перебігу даної інфекції, а також основним контингентом, що уражується, а саме працездатним населенням, що пов'язано як із професійними факторами, так і соціальними причинами. Однією з найбільш яскравих клінічних особливостей сучасного бруцельозу є наявність вираженої тенденції до переходу захворювання в хронічну форму з наступною інвалідизацією. Поліморфізм клінічних проявів, особливо на ранніх стадіях, утруднює своєчасну діагностику. Дотепер не вирішена проблема лікування бруцельозу, тому що збудник захворювання — внутрішньоклітинний паразит, що робить його недосяжним для дії антибактерійних засобів саме у період його перебування у клітині. Залишається проблемою створення надійної та безпечної вакцини. А все це може слугувати підґрунтям для використання бруцел як бактеріологічної зброї.

В залежності від збудника є різні джерела інфекції при зараженні людини: *Br. melitensis* — вівці й кози, *Br. abortus* — велика рогата худоба, *Br. suis* — свині., *Br. canis* — собаки, *Br. pinnipediae* — китоподібні., *Br. ceti* — морські ластоногі. Поки що незрозумілим є джерело інфекції для *Br. inopinata*. Ще для 3-х видів бруцел (*Br. ovis*, *Br. neotomae*, *Br. microti*) патогенність для людини поки не встановлена.

Бруцели стійкі у зовнішньому середовищі. У воді вони зберігаються понад 2 місяців, в молоці - 40 днів, у бринзі - 2 місяці, в сирому м'ясі - 3 місяці, в засоленому - до 30 днів, вовни - до 4 місяців. Бруцели гинуть при нагріванні і під впливом багатьох дезінфікуючих речовин. Від хворої людини здоровій бруцели не передаються. Резервуаром і джерелом інфекції є домашні тварини (вівці, кози, корови, свині, рідше собаки).

Патогенез. Зараження бруцельозом від хворих тварин відбувається за контактним, харчовим і повітряним шляхами. Зараження контактним шляхом, особливо часто відбувається при попаданні на шкіру навколоплідної рідини (допомога при отеленні, ягнінні, при догляді за новонародженими телятами, ягнятами). Часто заражаються ветеринарні працівники, телятниці, чабани та ін. Зараження може наступити і при контакті з м'ясом інфікованих тварин, з гноєм. Бруцели проникають через найменші пошкодження шкіри. **Харчове зараження часто відбувається через сире молоко**, а також при вживанні молочних продуктів (бринза, сир, масло). Зараження повітряним шляхом може наступити при попаданні в дихальні шляхи пилу, що містить *usa* (у місцях випасу і в загонах для утримання овець), а також в лабораторіях при порушенні техніки безпеки. Цей шлях інфікування спостерігається відносно рідко. Частіше хворіють особи працездатного віку (18~50 років). У більшості випадків це професійні захворювання.

Симптоми бруцельозу. Бруцельоз виникає при попаданні в організм від 10

мікробів. Воротами інфекції є мікротравми шкіри, слизові оболонки органів травлення і дихальних шляхів. На місці воріт інфекції якихось змін не розвивається. По лімфатичних шляхах бруцели досягають лімфатичних вузлів. Розмноження й нагромадження мікробів при бруцельозі відбувається переважно в лімфатичних вузлах, з яких бруцели періодично надходять у кров. Для бруцельозу характерна виражена алергічна перебудова організму. Бруцельоз відрізняється схильністю до хронічного перебігу, що пов'язано з тривалим перебуванням бруцел в організмі. Після перенесеної хвороби формується імунітет, але він не дуже тривалий і через 3-5 років можливе повторне зараження. Не кожне інфікування призводить до розвитку хвороби. Відповідна реакція залежить, певно, від стану імунної системи. У деяких осіб інфекція протікає без яких-небудь проявів, в інших розвивається бурхливий інфекційний процес або з самого початку протікає як хронічний. Вулиць з дуже слабким імунітетом навіть жива бруцельоз вакцина може викликати реакцію, що нагадує захворювання.

Прояви гострого бруцельозу Інкубаційний період при гострому початку хвороби може тривати близько 3 тижнів, однак інкубація може тривати кілька місяців. Ця форма бруцельозу не загрожує життю хворого, навіть без лікування вона закінчується одужанням.

Прояви хронічного бруцельозу характеризуються синдромом загальної інтоксикації (слабкість, головний біль). До загальних ознак можна віднести тривалу невисоку температуру, слабкість, підвищену дратівливість, поганий сон, порушення апетиту, зниження працездатності. Майже у всіх хворих відзначається збільшення лімфовузлів. Часто виявляється збільшення печінки і селезінки. На цьому тлі відзначаються ураження суглобів, нервової і статеві систем.



Хворі скаржаться на болі в м'язах і суглобах, переважно у великих. Частіше уражаються колінний, ліктьовий, плечовий, кульшовий суглоби, рідко - дрібні суглоби кисті і стоп. Порушення рухливості і деформація суглобів обумовлені розростанням кісткової тканини. Уражається хребет, частіше в поперековому відділі.

Враження центральної нервової системи (мієліт, менінгіти, енцефаліти, менінгоенцефаліти) спостерігаються рідко, але протікають довгостроково і досить важко. Зміни статеві системи у чоловіків проявляються в орхіт, епідидиміту, зниження статеві функції. У жінок спостерігаються сальпінгіти, метрити, ендометрити. виникає аменорея, може розвинутиися безпліддя. У вагітних жінок часто відбуваються викидні, завмерла вагітність, передчасні пологи, вроджений бруцельоз у дітей.

Лабораторна діагностика.

Бактеріологічний метод. Збудник бруцельозу при гострих і підгострих формах може бути виділений із крові, кісткового мозку та інших біосубстратів шляхом посіву на штучні поживні середовища. Однак, бактеріологічні методи дослідження складні й вимагають спеціальних умов, в тому числі, підвищеного захисту лаборантів. Ріст бруцел відбувається повільно, протягом місяця.

Серологічний метод. Із серологічних реакцій найбільш інформативною є реакція аглютинації, яка виконується в 2-х модифікаціях — реакція Райта, що проводиться у пробірці, та реакція Хеддлесона, яка проводиться на предметному склі й враховується в якісних поняттях (+ плюсах). При гострому варіанту перебігу бруцельозу антитіла починають виявлятися на другому тижні хвороби й надалі їхній титр наростає. Діагностичним вважається титр не менш ніж 1:200 (реакція Райта) та не менше ніж 2+ (реакція Хеддлесона). Більш чутливими для діагностики є реакція зв'язування

комплементу і непрямой гемаглютинації, які можуть віддиференціювати хворобу від поствакцинальних змін. В світі широко застосовують також дослідження в крові на антитіла різних класів в ІФА та проводять ПЛР.

Алергологічний метод. З алергологічних методів діагностики бруцельозу використовують пробу Бюрне¹ шляхом внутрішньошкірного введення бруцеліну (фільтрату триденної бульйонної культури *Br. melitensis*). Реакцію враховують за величиною набряку (при діаметрі менше 1 см — реакція вважається сумнівною, при 1-3 см — слабо позитивною; більше 3 см — позитивною). Внутрішньошкірна проба, як правило, стає позитивною до кінця першого місяця захворювання.

Лікування бруцельозу. Принципи і методи лікування залежать від форми бруцельозу. Антибіотикотерапія може дати ефект тільки при гострій формі бруцельозу, при хронічних формах призначення антибіотиків відіграє підсобну роль, основне значення має вакцинотерапія.

Для специфічної десенсибілізації і підвищення імунітету застосовують вакцинотерапію. При різко вираженій алергії використовують бруцеллін, однак найчастіше спеціальну (вбиту) вакцину. Живу вакцину призначають тільки з профілактичними цілями.

Сибірка (міжнародна назва цієї хвороби **Антракс** від грец. «*Внисбко*» — вугілля— це гостре зоонозне інфекційне захворювання, яке спричинює *Bacillus anthracis* і перебігає в людей найчастіше з ураженням шкіри з утворенням специфічного карбункулу, набряку та регіонарного лімфаденіту на тлі гарячки та інтоксикації, рідше з ураженням легеневої, кишкової систем і генералізацією процесу. Назву хвороба в світі отримала від схожості забарвлення чорного різновиду вугілля — (антрациту) і центральної зони сибіркового карбункулу. В Україні ще використовують, в тому числі і в офіційних медичних документах, стару назву «сибірка», що мала поширення в країнах колишнього СРСР. *B. anthracis* — велика Гр(+) нерухома паличка 3-10 мкм завдовжки і 1-1,5 мкм завширшки.



В організмі тварин і людини утворює капсулу, яка оточує одну клітину або весь ланцюжок. Капсули можуть утворюватися і при культивуванні на живильних середовищах із нативним білком. У мазках із культур на рідкому середовищі сибіркові бацили виглядають довгими ланцюжками, кінці клітин обрубані або злегка втягнуті, що надає ланцюгу форму **бамбукової тростини** з характерними колінчастими зчленуваннями. У зовнішньому середовищі бацили сибірки утворюють овальні спори, які розташовані в клітині центрально й не перебільшують її поперечного діаметру. В ґрунтах, багатих гумусом, при 25-40 °С спори можуть проростати у вегетативні форми. При температурах вище 43 °С і нижче 15 °С спороутворення припиняється. За типом дихання збудник сибірки є аеробом і факультативним анаеробом. До живильних середовищ невибагливий. На бульйоні дає ріст на дні пробірки у вигляді **жмутика вати**, залишаючи середовище прозорим. При посіві уколом у стовпчик **желатини ріст нагадує ялинку**, перекинуту вниз верхівкою. При посіві на МПА вірулентних штамів виростають **Р-форми** колоній із нерівними хвилястими краями, які нагадують **голову медузи або лев'ячу гриву**. Невірулентні або слабовірулентні штами утворюють круглі гладенькі **S-форми** колоній із чітко окресленим краєм. При посіві на **середовищі з пеніциліном** сибіркові бацили втрачають клітинну стінку, фрагментуються на кульки і **нагадують намисто**.

Антигени. Сибіркові бацили мають білковий антиген, який міститься в капсулі, і полісахаридний антиген, розташований в клітинній стінці. Полісахаридний антиген можна виявити за допомогою **реакції термореципітації за Асколі**. З досліджуваного матеріалу

кип'ятінням екстрагують цей антиген, який при додаванні до преципітуючої протисибіркової сироватки утворює кільце преципітації. При розмноженні в організмі, а також на середов. з плазмою й екстрактами з тканин збудники утворюють протективний антиген, який має сильні імуногенні властивості. **Токсинутворення** *B. anthracis* при культивуванні на рідкому середовищі продукує справжній екзотоксин, який складається принаймні з трьох компонентів: **набряковий токсин** викликає некроз і набряк шкіри у гвінейських свинок; **летальний токсин** («мишачий токсин») спричиняє смерть білих мишей, **протективний антиген**, який має імуногенні властивості.

Екологія. У звичайних природних умовах на сибірку хворіють різні види травоядних тварин — велика і дрібна рогата худоба, коні, рідше олені, верблюди, свині. Вони заражаються ч/з рот спорами сибіркових бацил. У них переважно розвиваються кишкова і септична форми сибірки. Хворі тварини виділяють збудник у зовнішнє середовище з випорожненнями і сечею. Людина заражається при безпосередньому контакті з хворими тваринами ч/з предмети і вироби із зараженої сировини (кожухи, рукавиці, шапки, коміри, пензлі для гоління тощо) або ч/з м'ясо хворих тварин. Улітку можливе зараження ч/з укуси гедзів. Захворювання на сибірку носить професійний характер. Частіше хворіють робітники м'ясокомбінатів, вовнопрядильних фабрик, тваринницьких ферм, шкірники, сортувальники хутра. Потрапивши в ґрунт, сибіркові бацили утворюють дуже стійкі спори, які зберігають життєздатність десятки років. Широко вживані дезинфектанти викликають їх загибель лише ч/з декілька годин, кип'ятіння — через 15-20 хв. Вегетативні форми мають таку ж резистентність, як і більшість неспорноносних бактерій.

Основне джерело інфекції — хворі на сибірку переважно травоядні тварини (велика і дрібна рогата худоба, коні, віслюки, мули, верблюди, олені, кролі, зайці). Велика кількість збудників знаходиться в крові (яка практично не згортається) захворілої тварини, у випорожненнях. По смерті її (практично всі травоядні гинуть) більшість вегетативних форм гине всередині трупа, але частина збудників, що потрапила в зовнішнє середовище з виділеннями, швидко перетворюється на спори.



Сибірка інколи реєструється й у деяких м'ясоїдних тварин в результаті вживання інфікованого м'яса, а також у всеїдних свиней (тільки в них зустрічається практично безсимптомна ангінозна форма).

Люди не відіграють ніякої ролі в передачі сибірки. Навіть при легеновому ураженні, коли в мокротинні багато збудників, інфікування оточуючих не відбувається, тому що головним чинником зараження є спори, які не утворюються в цій ситуації, а вегетативні форми вірулентно слабшають через перебування в організмі людини та серйозного тиску на них захисних факторів людини.

Головний механізм передачі — **контактний**. Відбувається потрапляння збудника через пошкоджену (навіть й мікротравмами) шкіру або слизові оболонки при догляді за хворими тваринами, кров та виділення яких містять багато збудників, при білуванні туш,

подальшій обробці м'яса, при роботі з забрудненою тваринною сировиною (хутро, шкіра). Найчастіше захворювання спостерігають в теплу пору року. Можливе зараження **аліментарним, повітряно-пиловим шляхом і трансмісивно через укуси жалючих мух (описаний в субтропічних і тропічних країнах)**. Казуїстичним є зараження медичних працівників при помилковому розкритті виразки, коли вони не дотримуються захисту й ріжуться самі при цій маніпуляції.

Фактори передачі — інвентар для догляду за тваринами, контаміновані предмети зовнішнього середовища, інфіковані продукти. Крім того, небезпеку може представляти ґрунт, вода, сіно, солома, що забруднені спорами *Bacillus anthracis*. Вхідними воротами інфекції є шкіра, слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, рідше — слизова оболонка кишечника. **В основі патогенезу** сибірки лежить дія трьох компонентів екзотоксину: набрякового, захисного (протективного) та летального. Потрапляючи до органів-мішеней екзотоксин розпадається на ці три компоненти, поєднання яких в наступному й буде обумовлювати переважання того чи іншого напрямку в клінічному перебігу хвороби. При шкірній формі інфекція проникає через дефекти шкіри. В місці проникнення збудника в шкіру розвивається вогнище серозно-геморагічного запалення з некрозом, значним набряком оточуючих тканин і регіонарним лімфаденітом. Формується сибірковий карбункул з некрозом в центрі. При шкірній формі збудник рідко прориває захисні бар'єри і поступає в кров, однак може призводити до значного депонування рідини в підшкірній клітковині в зоні набряку, що може призвести до гіповолемічного шоку. Шкірні форми сибірки найчастіші та зустрічаються в 95% всіх випадків. Решта припадає на інші ураження. Інкубаційний період — від кількох годин до 2 тижнів, в середньому 2-3 дні. Для шкірної форми характерна така послідовність змін: пляма, папула, везикула (пухирець), пустула (гнійний пухирець), карбункул, виразка. Спочатку утворюється червона пляма, потім вона стає червонувато-синього відтінку. Вона безболісна, нагадує укуси комах, дуже швидко протягом 2-3 годин перетворюється на папулу мідно-червоного забарвлення інколи з багровим відливом. З'являється і наростає шкірне свербіння.

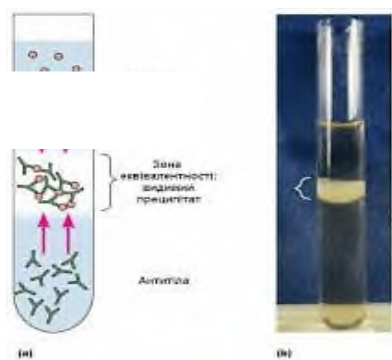


Типовий шкірний антракс на етапі карбункула.

Через 12-24 години в центрі папули з'являється пухирець діаметром 2-3 мм. Його вміст спочатку має серозний характер, потім стає темним, кров'яним, інколи — багрово-фіолетовим (*pustula maligna*). В результаті некрозу центральна частина виразки через 1-2 тижні перетворюється на чорний безболісний струп, навколо якого розташований запальний валик червоного кольору («вуглинка на червоному фоні»)

Діагностика включає: **бактеріологічний метод** (матеріалом для бактеріологічного дослідження може бути вміст карбункулу, кров, мокротиння, плевральна та спинномозкова рідина, блювотні маси і випорожнення). Для росту колонії сибіркового збудника на косому агарі характерна фігура перевернутої ялинки, а на горизонтальному поживному середовищу колонії великі, волокнисті по типу «голова медузи» або «грива лева», край колонії бахромчастий. Характерні морфологічні особливості збудника (розташування збудників у вигляді «потягу з товарними вагонами», а окремі збудники мають характерний вигляд «бамбукової тростини»), що виявляються при бактеріоскопії (дослідження бактерій при мікроскопії), та результати розвитку на біохімічному ряді Гіса, дають можливість підтвердити діагноз; **біологічний метод** (зараження лабораторних тварин); **серологічний** (реакція зв'язування комплемента (РЗК), РНГА, ІФА); особливим методом

діагностики є **реакція Асколі**. Цю реакцію використовують як у ветеринарії, роботі санітарної служби, так і в клінічній практиці медицини.



Внутрішньошкірну пробу з антраксином (спеціальним фільтратом бульонної культури збудника) в більшості країн на сьогодні не застосовують в медицині, а лише у ветеринарії.

Практична робота.

1. Вивчити та записати препарати для профілактики, лікування та діагностики бруцельозу та сибірки _____

2. Вивчити постановку реакції Асколі.

Мета поставлення: реакція термокільцепреципітації Асколі проводиться з метою експрес-діагностики сибірки. Реакція Асколі (A. Ascoli, 1877-1957, італ. біохімік) - метод виявлення в досліджуваному матеріалі термостабільного антигену сибіркової бацили, що є реакцією преципітації з протисибірковою сироваткою.

Постановка. Досліджуваний матеріал (шматочки органів, шкіра тварин, хутро) у кількості 1-2 г подрібнюють, заливають 5-10-кратною кількістю фізіологічного розчину і кип'ятять 30 хв. Екстракт охолоджують і фільтрують. У пробірки наливають по 0,25 - 0,5 мл протисибіркової преципітувальної сироватки, потім тонкою пастерівською піпеткою по стінці пробірки обережно, не допускаючи змішування компонентів, нашаровують таку саму кількість досліджуваного екстракту. **Обрахування результатів досліді.** При позитивній реакції (наявність в екстракті сибіркових антигенів) упродовж 1 - 15 хв на межі сироватки і екстракту з'являється сірувато-біле кільце.

Компоненти	Дослідна пробірка	Контроль антигену	Контроль сироватки
0,9 % розчин NaCl, мл		0.5	0.5
Діагностична сироватка	0.5		0.5
Екстракт діагностичного матеріалу	0.5	0.5	
Результат	+	-	-
Рисунок			

--	--	--	--

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема «Мікробіологічна діагностика спірохетозів (сифілісу, лептоспірозу, бореліозів)»

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика спірохет.
2. Мікробіологічна діагностика поворотного тифу.
3. Мікробіологічна діагностика лептоспірозу.
4. Біологічні властивості збудника сифілісу.
5. Мікробіологічна діагностика сифілісу.
6. Профілактика і терапія сифілісу.
7. Невенеричні форми сифілісу.
8. Лаймобореліози.

Спірохетози - велика група інфекційних захворювань людини і тварин, збудниками яких є патогенні спірохети. Спірохетози поширені повсюдно. Багато спірохетозів вивчені недостатньо. Найбільш вивчені спірохетози поділяються на такі групи.

1. Спірохетози кишкові, до яких відносяться лептоспіроз.
2. Спірохетози дихальних шляхів (бронхіальний спірохетоз).
3. Спірохетози трансмісивні, що передаються вошами або кліщами, поворотні тифи.
4. Спірохетози зовнішніх покривів, до яких відносяться сифіліс, фрамбезія, беджель, пінта.

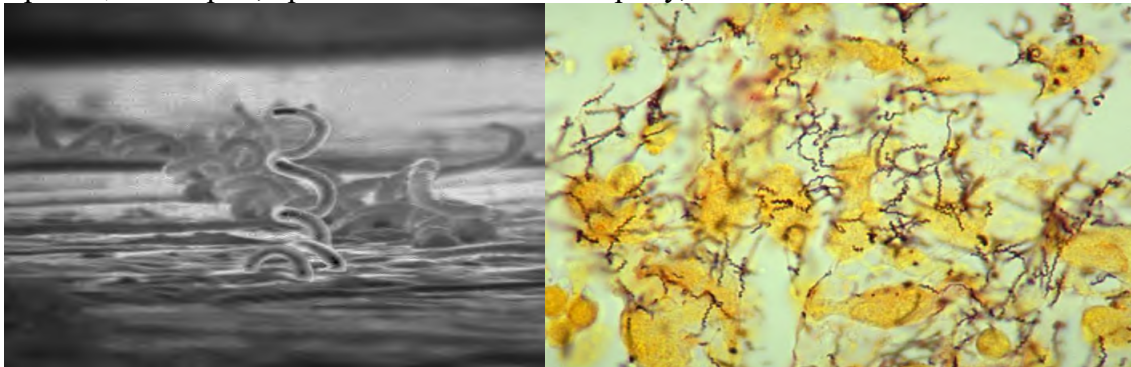
До спірохетозів відносять також захворювання, що викликаються асоціацією спірохет і бактерій: **ангіна Симановського - Плаута - Венсана, виразковий стоматит.**

Сифіліс — інфекційне захворювання, яке передається статевим шляхом і збудником якого є бактерія спірохета виду *Treponema pallidum* (бліда трепонема) підвиду *pallidum*.

Відомі як мінімум чотири підвиди:

- T. pallidum pallidum*, який викликає сифіліс,**
- T. pallidum pertenue*, який викликає фрамбезію,**
- T. pallidum carateum*, який викликає пінту,**
- T. pallidum endemicum*, який викликає беджель.**

Це досить довга спірохета (8-20 мікрон), тонка (0,25-0,35 мікрон у діаметрі), радіус спіралі 0,8-1 мікрон, крок гвинта — біля 1 мікрону, кількість завитків — 9-12.



Рухома за допомогою т.з. аксиллярного тіла, що являє собою внутріпериплазменні джгутики. Погано фарбується аніліновими фарбниками зважаючи на наявність великого числа гідрофобних компонентів в цитоплазмі, забарвлюється в блідо-рожевий колір за **методом Романовського-Гімзи** (за що і отримала назву *pallidum* — «бліда»), для детекції також застосовують методи протрави і наплення срібла. Незабарвлені

нефіксовані клітини не видно в світловий мікроскоп, для візуалізації цих бактерій в живому стані застосовують метод мікроскопії темного поля та використовують флюоресцентні антитіла. *T. pallidum* — хемоорганогетеротроф, облігантний анаероб. Не культивуються на простих живильних середовищах.. Культивовані спірохети втрачають патогенність, але антигенні властивості частково зберігаються (кардіоліпіновий екстракт використовується для постановки реакції Вассермана). Також *T. pallidum* культивується шляхом зараження кроликів, зважаючи на сприйнятливість останніх, і є зручним організмом для моделювання сифілісу (у тому числі і нейросифілісу).

Патогенез *T. pallidum pallidum* — рухома спірохета, яка звичайно передається при статевому контакті, проникаючи до тіла хазяїна через щілини в епітеліальному шарі. Інфекція може також передаватися зародку плацентарним шляхом протягом пізніших стадій вагітності, даючи початок вродженому сифілісу. Спіральна структура бактерії *T. pallidum* дозволяє їй рухатися гвинтоподібним чином через в'язке середовище, наприклад слиз. Після проникнення до тіла хазяїна, бактерія проникає до кровоносної і лімфатичної систем. Хворобі притаманна послідовність змін стадій.

За даними МОЗ, захворюваність на сифіліс в Україні на сьогодні має тенденцію до збільшення. Симптоми сифілісу дуже різноманітні. Будь-які прояви, такі як виділення або незвичний висип, особливо в паховій області вже є сигналом для негайного обстеження у лікаря. Симптоми сифілісу змінюються залежно від стадії захворювання. Виділяють три періоди: Первинний період — основним його проявом є так званий твердий шанкр, який утворюється в місці потрапляння і укорінення блідих трепонем і являє собою щільне, червоне, безболісне утворення з ерозією. Вторинний період — у цій стадії можуть виникнути висипання на шкірі та слизових; Третинний період — характеризується появою інфекційних гранулом — скупчень клітин в різних тканинах.

Однак, ця хвороба відома як «великий імітатор» через її часті атипіві прояви. Діагноз, як правило, ставиться за допомогою аналізів крові; однак, зрідка бактерії також можна виявити за допомогою мікроскопії.

На слизовій оболонці статевих органів збудник сифілісу — бліда спірохета — посилено розмножується й поширюється на найближчі ділянки тіла. Від 4 до 5 тижнів після зараження триває інкубаційний період, ознаки захворювання при цьому не виявляють. Потім на місці розмноження спірохет з'являється первинний афект - особлива виразка, яку називають шанкром, округлої форми з блискучою поверхнею та затвердінням в основі.



Через кілька днів після появи виразки різко збільшуються найближчі лімфатичні вузли. Це — первісний період сифілісу. Він триває приблизно місяць, та оскільки сифілітична виразка і збільшення лімфатичних вузлів не супроводяться болем, хворий на сифіліс може не помічати ознак хвороби і не звернутися вчасно за медичною допомогою.

Спірохети, інтенсивно розмножуючись, поширюються в організмі. Вони з'являються в усіх його органах і тканинах, у крові й лімфі. У цей вторинний період сифілісу спостерігають явища інтоксикації (отруєння) організму токсинами спірохет. При цьому немає якихось характерних ознак, за якими можна було б безпомилково визначити захворювання на сифіліс; звичайна загальна слабкість, головний біль, нездужання, біль у м'язах, суглобах і кістках, невелике підвищення температури. Часом усе це хворий розцінює як грип. Єдина характерна ознака вторинного періоду сифілісу — рожево-червоні плями по всьому тілу; вони не завжди легко виявляються, а якщо хворий їх і помічає, то, як правило,

вважає, що це алергія на якусь їжу.



У вторинний період сифілісу хворий **надзвичайно заразний** для навколишніх. У третинному періоді сифілісу в місцях скупчення спірохет уражаються тканини: спочатку тканина сильно набрякає, а потім мертвіє і розпадається, на її місці утворюється глибокий рубець, характерний тільки для сифілісу. Такі ураження тканини (гуми) можуть з'явитись на будь-якій ділянці тіла.



Пацієнт з третинним (гумозним) сифілісом. Бюст в Музеї людини, Париж.

Поява гуми на ділянці твердого піднебіння спричиняє руйнування кістки в цьому місці й виникнення характерної для сифілісу гугнявості. Гума на ділянці спинки носа руйнує кістки носа, призводить до його «провальювання». Ушкодження різних частин тіла спотворюють людину і роблять її інвалідом. При сифілісі дуже уражаються кровоносні судини, особливо аорта, стінка якої втрачає свою високу міцність, еластичність і під тиском крові поступово розтягується й може розірватись. Розривання аорти призводить до майже миттєвої смерті.

Вроджений сифіліс може виникнути під час вагітності або під час пологів. Дві третини сифілітичних немовлят народжуються без симптомів. Поширені симптоми, які згодом розвиваються протягом перших двох років життя, такі: гепатоспленомегалія (70 %), висипання (70 %), гарячка (40 %), нейросифіліс (20 %) і пневмонія (20 %). За відсутності лікування в 40 % випадків може виникнути пізній уроджений сифіліс, з такими симптомами, серед інших, як: сідловидна деформація носа, симптом Хігоуменакіса, шаблеподібна гомілка або суглоби Клутона.



Сифіліс ефективно лікують за допомогою антибіотиків, зокрема, перевагу віддають внутрішньом'язовим ін'єкціям пеніциліну (вводиться внутрішньовенно у випадку нейросифілісу), або цефтріаксону, а тим, у кого серйозна алергія на пеніцилін — призначають пероральний прийом доксицикліну або азитроміцину.

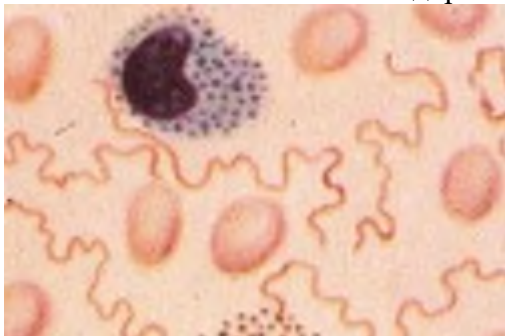
Специфічна діагностика

Тести підрозділяють на нетрепонемні і трепонемні групи. Раніше в Україні на першому етапі використовували реакцію Вассермана. На сьогодні замість неї застосовують мікрореакцію преципітації (антикардіоліпіновий тест, RPR - англ. Rapid Plasma Reagin), РІТ – реакцію іммобілізації трепонем.. Нетрепонемні методи аналізу використовують на початковому етапі, і включають в себе тести на венеричні захворювання в науково-дослідній лабораторії (VDRL) та антикардіоліпінові тести. Однак, оскільки ці тести іноді мають помилкові спрацьовування, необхідно додаткове підтвердження у вигляді трепонемного тесту, такого як тест гемаглютинації антитіл до блідої трепонемі (ТРНА) або флуоресцентний тест адсорбції трепонемних антитіл (FTA-Abs). Помилкові спрацьовування при проведенні нетрепонемних аналізів можуть виникати при наявності деяких вірусних інфекцій, таких як вітряна віспа і кір, а також при лімфомі, туберкульозі, малярії, ендокардиті, захворюваннях сполучної тканини і вагітності. Тести на антитіла до блідої трепонемі зазвичай показують позитивний результат через два-п'ять тижнів після початкового зараження. Нейросифіліс діагностують шляхом виявлення великої кількості лейкоцитів (переважно лімфоцитів) і високого рівня білку в спинномозковій рідині при наявності встановленого сифілісу.

Пряме тестування.

При застосуванні темнопольної мікроскопії серозної рідини з шанкра, можна поставити негайний діагноз. Тим не менш, лікарні не завжди мають в своєму розпорядженні обладнання та досвідчених співробітників, тоді як аналіз необхідно зробити вже протягом 10 хвилин після взяття зразку. Повідомляють, що чутливість становить майже 80 %, і, таким чином, цей метод можна використовувати тільки для підтвердження діагнозу, але не виключення його. З отриманим зразком з шанкра можна виконати ще два аналізи: пряму реакцію флуоресціюючих антитіл і ПЛР. При прямій реакції флуоресціюючих антитіл використовують антитіла, які до цього були помічені флуоресцеїном, щої прикріплюються до специфічних білків сифілісу, в той час як ПЛР виявляє специфічні сифілітичні гени. Ці тести нечутливі до часу, оскільки для них не потрібні живі бактерії, щоб поставити діагноз.

Поворотний тиф (лат. *typhus recurrens*) — збірна назва, що об'єднує епідемічний (вошивий) (переносник збудника — воша). Збудника епідемічного поворотного тифу *Borrelia recurrentis* *Obermeieri* відкрив К. Обермайер 1868 року.

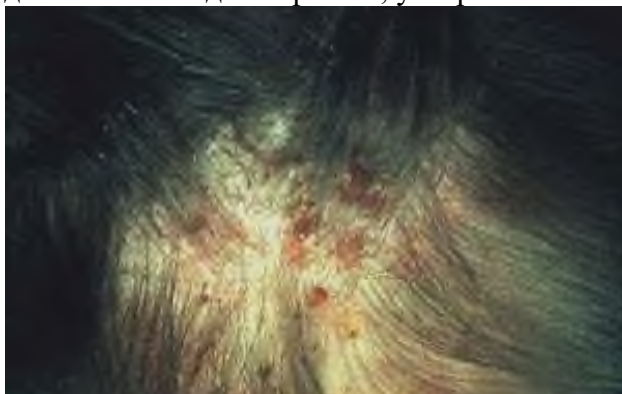


Передача відбувається від хворої людини до здорової вошима. та ендемічний (кліщовий) (переносник збудника — кліщі) спірохетози, які перебігають з чергуванням нападів гарячки та періодів нормальної температури тіла (апірексії).

Епідеміологія. Кліщі з роду орнітодорусів, що є резервуаром інфекції, зустрічаються у місцевостях із жарким кліматом (наприклад, у Середньоазіатських республіках). Передача інфекції відбувається при укусі кліща.

Патогенез. З вхідних воріт інфекції збудник потрапляє з крові у кровоутворюючі органи, печінку, центральну нервову систему. Антитіла, що утворюються в організмі, викликають розпад (лізис) спірохет, але їхня частина, зберігшись у вогнищі інфекції, потрапляючи у тік крові, викликає черговий напад хвороби.

Симптоми. Інкубаційний період 7-14 днів. Початок хвороби гострий - з остуди та підвищення температури за декілька годин до 38,5-39,5°C. На місці укуса на шкірі, піднімаючись над поверхнею, утворюється папула темно-вишньового кольору.



Під час першого лихоманкового нападу, що триває 2-3 дні, у хворого відмічаються слабкість, нездужання, біль у гомілкових м'язах, незначна жовтуватість шкіри, вузечки язика та склер очей, помірне збільшення селезінки.

Наприкінці нападу температура критично падає до нормальних або субфебрильних цифр: зниження температури супроводжується рясним потовиділенням; настає покращення стану хворого - безлихоманковий період (апірексія).

Тривалість наступних нападів від 10-12 годин до 2-3 днів, періоди апірексії тривають від 1-го до 5-9 днів; усього під час хвороби буває 6-12, іноді 15-18 лихоманкових нападів.

На висоті лихоманкового нападу хвороби у мазку або товстої краплі крові виявляють спірохети; іноді їх вдається знайти й у безлихоманковий період.

Поворотний тиф ендемічний (кліщовий) — зоонозна природно-осередкова інфекційна хвороба, що характеризується гарячковими нападами, які чергуються з періодами апірексії (нормальної температури). Природні вогнища зустрічаються в Центральній Америці, в Закавказзі, на Північному Кавказі і в Середній Азії.

Джерелами збудників інфекції є різні хребетні тварини: гризуни, що населяють пустелі, напівпустелі і степи (піщанки, туркестанська і пластінчатозубе щури, тушканчики, полівки та ін), комахоїдні (їжак), хижаци (шакал, лисиця та ін.) Резервуар і переносник збудника — аргасових кліщів роду *Alectorobius*, що паразитує на тваринах — джерелах

збудників інфекції. Кліщі заражаються при кровосмоктанні на тварин – носіях спірохет і передають їх при укусі іншим тваринам і людині.

Клінічна картина. Тривалість інкубаційного періоду 5-15 днів. На місці укусу кліща утворюється **первинний афект – свербляча багряна папула**, яка тримається 2-4 тижні.



Через кілька днів розвивається гарячковий напад. Температура тіла підвищується з ознобом до 39-40 ° С, з'являються головний біль, болі в м'язах, жар, блювота, пронос, болі в животі і попереку, збудження, марення. Особа гипереміровано, склери субіктеричні. Селезінка та печінка збільшені. Через 1-4 дні температура тіла критично падає. Інтервали між нападами від 1 до 3 днів. Число нападів до 10-20. Загальна тривалість хвороби може бути до 2 – 3 міс.

Діагностика. Для діагнозу важливі конкретна епідеміологічна ситуація, наявність нападів у перебігу хвороби та інші клінічні ознаки, наявність папули у місці укусу кліща, воші. Виявлення спірохет підтверджує діагноз.

Лікування. Хворих госпіталізують, призначають тетрациклін по (8-10 днів), десенсибілізуючі препарати (супрастин, дімедрол) та ністатин.

Хвороба Лайма (інші назви — бореліоз, Лайм-бореліоз, системний кліщовий бореліоз) — це природно-осередкова інфекційна хвороба з групи бактеріальних зоонозів, яка спричинюється бореліями комплексу *Borrelia burgdorferi sensu lato*, передається кліщами і характеризується переважним ураженням шкіри у вигляді мігруючої еритеми, а також нервової системи, опорно-рухового апарату і серця. Поширена у Північній Америці та Європі, і є другою за швидкістю зростання інфекційною хворобою в США після ВІЛ-інфекції. Про перші випадки захворювання людей на хворобу Лайма в Україні відомо з 1994 року, офіційна реєстрація недуги ведеться з 2000-го. Основним переносником збудника є кліщі, а його носіями — дрібні ссавці та гризуни.



Збудник хвороби Лайма — бактеріальна інфекція роду *Borrelia*, виду *Borrelia burgdorferi*, який розноситься кліщами роду *Ixodes*. Захворювання зазвичай перебігає в три етапи. Іноді інтервали між окремими фазами захворювання є довгими і безсимптомними.

1 Фаза захворювання - шкірні інфекції (**мігруюча еритема**). Часто приблизно до чотирьох тижнів на місці укусу кліща є почервоніння. Загалом, їх діаметр збільшується поступово, але в центрі блідіше. Також висип є чіткою ознакою хвороби Лайма.

2 Фаза захворювання - поширення в організмі Приблизно через 6 місяців, збудники поширюються в організмі. Якщо нервова система постраждає (гострий нейроборреліоз), то може відбутися параліч, наприклад, параліч лицьового нерва (параліч Белла). Крім того відбуваються сенсорні порушення. Зустрічаються рідше менінгіти (менінгіт) або запалення мозку (енцефаліт) з лихоманкою і біль в шії.

3 Фаза захворювання - хронічна стадія Пізніше симптоми можуть проявлятися від декількох місяців до декількох років. Вони стосуються, головним чином суглобів, шкіри і нервової системи. Найчастіше колінні суглоби і біль (артрит Лайма).

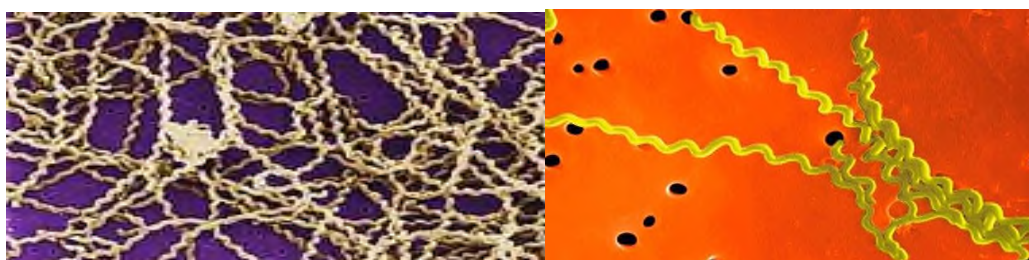
Інкубаційний період кліщового бореліозу складає від 1 до 20 діб (частіше 7-10). Хвороба Лайма розпочинається з появи хворобливості, свербіння, набрякання і почервоніння шкіри на місці присмоктування кліща. Хворі скаржаться на головний біль, загальну слабкість, нудоту. Температура тіла підвищується до 38°C, іноді відчувається озноб. Період лихоманки триває 2-7 діб. Протягом кількох тижнів від моменту зараження можуть з'явитись ознаки враження серця та нервової системи.

Лікування кліщового бореліозу призначається при появі почервоніння в місці присмоктування кліща, лихоманки. Хвороба Лайма є виліковною, але за пізньої терапії захворювання прогресує, часто переходить у рецидивні та хронічні форми, зниження працездатності, а в деяких випадках призводить до інвалідності. Незалежно від давності інфекції при всіх проявах бореліозу показано лікування антибіотиками. В даний час використовують антибактеріальні препарати трьох фармакологічних груп: тетрацикліни (доксидиклін, тетрациклін); пеніциліни (амоксидицилін, амоксиклав, пеніцилін), цефалоспорины третього покоління (цефуроксим, клафоран). Успіх лікування залежить від раціонального вибору засобу з урахуванням його фармакологічних властивостей. Рання антибактеріальна терапія, проведена на першій стадії, знижує ризик розвитку неврологічних та кардіологічних порушень, ураження суглобів та судин. Тривалість лікування хвороби Лайма у людини антибактеріальними препаратами залежить від наявності і вираженості ознак ураження органів.

Специфічна профілактика хвороби кліщового бореліозу не розроблена.

Лептоспіроз – гостра інфекційна хвороба з групи зоонозів, що перебігає із гарячкою, загальною інтоксикацією, ураженням нирок, печінки, серцево-судинної та нервової систем, геморагічним синдромом. В Україні він реєструється в усіх областях, причому зберігається тенденція до подальшого зростання захворюваності. Останнім часом тяжкість перебігу (до 70% серед госпіталізованих хворих) і високу летальність від лептоспірозу пов'язують зі зміною провідного серовару збудника та переважанням найбільш патогенного з них *L. icterohaemorrhagiae*.

Етіологія. Хворобу спричинюють патогенні лептоспіри *L. interrogans*, яких за антигенною структурою налічується понад 200 серологічних варіантів, об'єднаних у 25 серогруп.



Основне значення в патології людини мають серовари *icterohaemorrhagiae*,

grippotyphosa, hebdomadis, canicola, pomona та ін. Лептоспіри утворюють екзотоксин і ферменти патогенності, а при їх загибелі вивільнюється ендотоксин. Лептоспіри стійкі до дії низьких температур (добре зберігаються в замороженому стані), тривало виживають у воді, чутливі до висушування, сонячного проміння, високої температури, препаратів хлору.

Епідеміологія. Резервуаром збудника лептоспірозу є дикі гризуни (щури, миші), свійські (свині, велика рогата худоба, собаки) і промислові (лисиці, песці) тварини, які виділяють лептоспір у довкілля з сечею. Основним носієм серогрупи *grippotyphosa* в Україні є звичайні полівки, *romona* – польові миші, *icterohaemorrhagiae* – сірі щури.



Хвора людина не становить небезпеки щодо зараження інших людей. Пряма передача інфекції від людини можлива лише в разі вродженої інфекції та вигодовуванні дитини грудним молоком. **Механізм передачі збудника** – аліментарний або контактний. Зараження відбувається під час вживання контамінованої води і харчів, купання, риболовлі, догляду за хворими тваринами, укусу гризуном. До групи ризику належать тваринники, меліоратори, працівники м'ясокомбінатів, робітники очисних споруд і каналізації, мисливці, рибалки.

Патогенез. Лептоспіри проникають в організм людини через слизові оболонки травного каналу, а також кон'юнктиву та ушкоджену шкіру, з кров'ю розносяться по всьому організму, де відбувається їх адгезія до ендотелію капілярів із колонізацією клітинних мембран і розвитком універсального капіляротоксикозу, осідають у різних органах, де продовжується їх активне розмноження (септична або септицемічна стадія). При лептоспірозі встановлено гіперактивацію медіаторних систем організму. У наступній, імунній, стадії характерне асептичне запалення (менінгіт, іридоцикліт тощо), у генезі якого більшу роль відіграють імунні механізми, ніж прямий цитопатичний ефект. Живі лептоспіри та продукти їх життєдіяльності спричиняють патологічні зміни в нирках (вибіркове ураження звивистих канальців у вигляді дистрофії і некрозу), внаслідок чого виникає гостра ниркова недостатність. Закономірним є ураження печінки (часто з жовтяницею) різного генезу: дегенеративні зміни гепатоцитів, внутрішньопечінковий холестаза, гемоліз. Характерні тромбогеморагічні прояви, ураження нервової системи. Можливий розвиток ДВЗ-синдрому, інфекційно-токсичного шоку.

Клініка. Інкубаційний період триває від 1 до 20 діб, частіше – 7-14 діб. Для лептоспірозу характерний поліморфізм клінічних проявів. При лептоспірозі характерними вважають ураження печінки, нирок і судин. Початок захворювання гострий, часто раптовий (хворі можуть зазначити навіть годину), з трясучим ознобом, гарячкою (підвищення температури тіла до 39-40 °С і вище), вираженими симптомами інтоксикації: загальною слабкістю, сильним головним болем, запамороченням, нудотою, блюванням; можливі збудження, марення, непритомний стан.

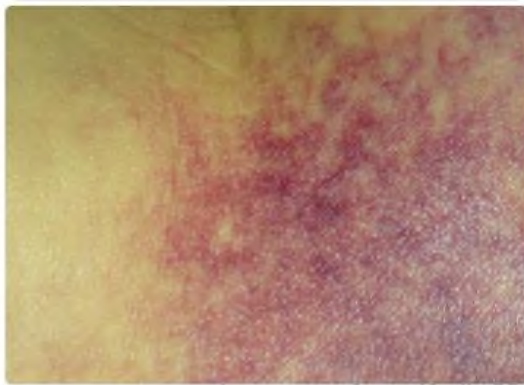
ЛЕПТОСПИРОЗ

класифікація

За збудником	<i>Leptospira interrogans</i> : <i>L. icterohaemorrhagiae</i> , <i>L. grippityphosa</i> , <i>L. pomona</i> , <i>L. tarassovi</i> , <i>L. canicola</i> , <i>L. hebdomadis</i> та ін.
Клінічні форми	жовтянична, безжовтянична.
Провідний синдром	ренальний, гепаторенальний, геморагічний, менінгеальний, легеневий, серцево-судинний, абдомінальний.
Перебіг	гострий, затяжний, без рецидивів, з рецидивом(ами).
Ступінь тяжкості	легкий, середньої тяжкості, тяжкий.
Ускладнення	гостра ниркова недостатність, гостра нирково-печінкова недостатність, інфекційно-токсичний шок, ДВЗ-синдром, гостра серцево-судинна недостатність, міокардит, набряк мозку, увеїт, іридоцикліт, неспецифічна пневмонія, гепатит, панкреатит та ін.



Крововилив у калитку



Крововилив у шкіру

Для лептоспірозу характерні міалгії, що тривають 8-10 діб, **особливо в литкових м'язах**, стегнах, попереку, де що рідше виникають у м'язах спини, грудей, живота як під час рухів, так і в спокої. Біль у животі може симулювати картину гострого хірургічного захворювання. На 3-6-й дні від початку хвороби на кінцівках і тулубі може з'явитися поліморфна, розеолезно-папульозна, еритематозна або уртикарна висипка, іноді свербіж. Екзантема утримується кілька днів, після неї залишається пігментація, часом лущення.

Діагностика. У перші дні хвороби діагноз можна підтвердити виявленням лептоспір при мікроскопії у темному полі крові (під час гарячки), сечі (з 6-7-го днів), у лікворі (за наявності ознак менінгіту). Проводять мікроскопію цитратної крові або осаду сечі, одержаної центрифугуванням. Лептоспіри культивуються в анаеробних умовах на **слаболужних живильних середовищах, збагачених кролячою сироваткою** (Уленгута, Терських,

Ферворта-Вольфа), але ростуть дуже повільно (до 1-3 міс.). Доступним, високочутливим і специфічним засобом діагностики лептоспірозу є серологічний метод за допомогою реакції мікроаглютинації (РМА) або аглютинації-лізису (РАЛ) з живими культурами лептоспір. Розроблено імуноферментний метод виявлення як антигенів лептоспір, так і антитіл до них.

Лікування. При встановленні діагнозу лептоспірозу обов'язкова госпіталізація в інфекційне відділення, за необхідності невідкладна допомога надається у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії. Як етіотропні засоби призначають антибіотики пеніцилінового ряду: Показана специфічна терапія за допомогою донорського протилептоспірозного імуноглобуліну

Профілактика. Необхідні дератизаційні заходи, охорона джерел водопостачання і продуктів харчування від забруднення виділеннями гризунів; заборона вживання води з відкритих водойм; використання захисного одягу під час робіт у несприятливих умовах, догляду за хворими тваринами; проведення ветеринарно-санітарних і меліоративних робіт.

Практична робота

1. Мікроскопічне дослідження демонстраційних мікропрепаратів.

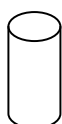
<i>T. pallidum</i> , реакція імунофлюоресценції	<i>Leptospira interrogans</i> , фазово-контрастна мікроскопія	<i>Borelia persica</i> , фарбування за Романовським-Гімзою
Рисунок		

2. Вивчити реакцію Вассермана з сироваткою крові хворого з підозрою на сифіліс.

Постановка реакції проводиться згідно зі схемою.

№ пробірок / інгредієнти	1(досл.)	2 (к.сиров.)	3 (к. аг.)
Сироватка хворого	0,5	0,5	--
Антиген	0,5	--	0,5
Комплемент	0,5	0,5	0,5
Фіз. розчин	--	0,5	0,5
37°C, 30 хвилин			
Гемолітична суміш	1,0	1,0	1,0
37°C, 60 хвилин			
Обрахування РЗК (за затримкою гемолізу в дослідній пробі)			

Підпис викладача _____



Дата _____ № _____
Тема «Мікробіологічна діагностика рикетсіозів»
Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика рикетсій. Класифікація. Види рикетсіозів.
2. Морфологія, тинкторіальні властивості, культивування, токсиноутворення та патогенність збудників епідемічного та ендемічного висипних тифів.
3. Джерело інфекції та механізм передачі епідемічного та ендемічного висипних тифів.
4. Хвороба Бріля. Диференціація епідемічного висипного тифу та хвороби Бріля.
5. Лабораторна діагностика рикетсіозів
6. Специфічна профілактика і лікування рикетсіозів.

Всім рикетсіям властивий внутріклітинний паразитизм; вони не здатні розвиватись на штучних поживних середовищах. Для їх культивування придатні курячі ембріони, фібробласти курячих ембріонів і культури клітин савців. В організмі людини рикетсії активно розмножуються в ядрах і цитоплазмі ендотеліальних клітин, що зумовлює розвиток васкулітів і утворення периваскулярних мононуклеарних інфільтратів. У більшості сучасних класифікацій виділяють **три групи рикетсіозів**.

Група висипного тифу:

епідемічний висипний тиф та його рецидивуюча форма — хвороба Брілла (антропоноз, збудник — *Rickettsia prowazekii Rocha-Lima*, переносники — воші);

епідемічний (щуриний) висипний тиф (збудник *Rickettsia mooseri*, резервуар збудника — щури і миші, переносники — блохи);

лихоманка цуцугамуші, або японська річкова лихоманка (збудник — *Rickettsia tsutsugamuchi*, резервуар — гризуни і кліщі, переносники — кліщі).

Група плямистих лихоманок:

плямиста лихоманка Скелястих гір (збудник — *Rickettsia rickettsii*, резервуар — тварини і птахи, переносники — кліщі);

марсельська, або середземноморська лихоманка (збудник — *Rickettsia conori*, резервуар — кліщі і собаки, переносники — кліщі);

австралійський кліщовий рикетсіоз (збудник — *Rickettsia australis*, резервуар — дрібні звірятка, переносники — кліщі);

кліщовий висипний тиф Північної Азії (збудник — *Rickettsia sibirica*, резервуар — гризуни і кліщі, переносники — кліщі);

везикулезний рикетсіоз (збудник — *Rickettsia acari*, резервуар — миші, переносники — кліщі).

Інші рикетсіози: ку-лихоманка (збудник — *Coxiella burneti*, резервуар — багато видів диких і домашніх тварин, кліщі, переносники — кліщі).

Рикетсії — облігатні внутрішньоклітинні бактерії, паразити, що не розмножуються всередині вакуолей клітин хазяїна та не паразитують у лейкоцитах. **Розмножуються вони в цитоплазмі клітин.** Розміщуючись спочатку біля ядра, рикетсії поступово заповнюють всю клітину, що призводить до її загибелі. Рикетсії здатні утворювати ендотоксин, зв'язаний з їхньою мембраною. При нагріванні та обробці формаліном він втрачає токсичність, але зберігає свої антигенні властивості, що дає змогу використовувати це для створення у людей штучного імунітету. Найбільшу антигенну активність має оболонка рикетсій. Подібність антигенної структури різних видів призводить до формування перехресного імунітету, що необхідно враховувати при проведенні серологічних реакцій. Рикетсії не утворюють L-форм під впливом антибіотиків, що обумовлює відсутність резистентності до них. Рикетсії нестійкі у навколишньому середовищі: при нагріванні до 60°C гинуть через декілька хвилин, швидко нейтралізуються під дією 0,5% розчину формаліну, фенолу, етеру, спирту; проте добре переносять висушування до 2 місяців та більше. Для забарвлення рикетсій застосовують методику Романовського-Гімза. За Грамом вони забарвлюються негативно. Поліморфізм рикетсій обумовлюється фазою їх розвитку: ниткоподібні форми — рання

фаза, палички та коки — кінцева. Форми, які фільтруються — незрілі, вони набувають патогенності та імуногенності лише після пасажів на курячих ембріонах.

Особливості епідеміологічного процесу. Інфікування рикетсіями відбувається через шкіру та слизові оболонки. Збудники тифів та рикетсіозів із групи плямистих гарячок, потрапляють в організм людини при укусі інфікованими членистоногими. Кліщі — переносники збудників плямистих гарячок і гарячки цуцугамуші, впорскують рикетсії в шкіру людини при укусі. Воші та блохи, переносники відповідно епідемічного та ендемічного висипних тифів, відкладають інфіковані випорожнення на шкіру; хвороба виникає тоді, коли мікроорганізми проникають всередину макроорганізму через ранки на шкірі. Для більшості рикетсіозів характерна ендемічність, що пояснюється певним видовим спектром вразливих тварин, які складають резервуар і джерело інфекції, та комах-переносників.

Епідемічний висипний тиф (*typhus exanthematicus*) — інфекційне захворювання, яке перебігає з ураженням судин мікрогемодиркуляторного русла і центральної нервової системи та характеризується специфічним висипанням і гарячкою. Масове поширення висипного тифу постійно спостерігалось під час війн, голоду та інших соціальних потрясінь, які супроводжувалися різким погіршенням житлових і побутових умов життя населення (вошивість), а також при пересуванні великих груп людей.

Етіологія. Збудник хвороби — рикетсії Провасека (*Rickettsia prowazekii*), які існують у 2-х стадіях: вегетативній або тканинній (забезпечує зростання й розмноження рикетсій) та спокою (забезпечує збереження у зовнішньому середовищі та проникнення до чутливої клітини). Вони мають 2 **антигени**: поверхнево розміщений видонеспецифічний (загальний з рикетсіями **ендемічного висипного тифу** та протеєм ОХ-19) — термостабільний, розчинний антиген ліпідно-поліцукридно-білкової природи; видоспецифічний нерозчинний термолабільний білково-цукридий антигенний комплекс, що розміщений під попереднім. Для захисту від фагоцитозу рикетсії мають фосфоліпази та гемолізін. Культивують рикетсії Провасека на лабораторних платтяних вошах, у легенях білих мишей (інтраназальне зараження тварин) і в культурі тканин.

Збудник висипного тифу — стійкі до висушування і заморожування. Вони швидко гинуть при нагріванні вище 50° С і під впливом дезінфікуючих речовин. Джерелом захворювання і резервуаром рикетсії є хвора людина. Зараження відбувається від людини, хворої на епідемічний висипний тиф. Воша заражається при ссанні крові хворого на висипний тиф, рикетсії проникають в кишку воші, де розмножуються.

При кровососанні на здоровій людині у вошей водночас відбувається дефекація і разом з фекаліями виділяється велика кількість рикетсій. На місці укусу воші проявляється свербіж: людина чухає шкіру і втирає в неї фекалії воші, які містять рикетсії. Останні можуть бути занесені в шкіру і при терті одягом (коміром, поясом).

Рикетсії попадають в кров людини і розносяться по всьому організму, проникаючи в різні органи. У крові збудники гинуть, виділяючи **ендотоксин**, який уражає судини і токсично діє на організм.

Патогенез. Інкубаційний період триває протягом 5-25, частіше 10-12 днів. Захворювання починається гостро: з'являються сильний головний біль, здебільшого у висковій області (голова мов охоплена обручем); хворі втрачають апетит.



Почуття холоду змінюється відчуттям жару. Температура піднімається поступово (ступенеподібно) і до 4-5-го дня досягає 39-40 °С. Поведінка хворого не відповідає важкості захворювання. Хворий збуджений, говорить, очі блищать, лице червоне, ледь набрякле, губи червоні. На висоті гарячкового періоду (на 2-3-й тиждень хвороби) у зв'язку з ураженням довгастого мозку можуть розвиватися порушення актів ковтання і дихання (бульбарні явища).

На 4-5 день хвороби на шкірі живота і прилеглих ділянках грудної клітки з'являється характерне висипання, одні елементи якого блідо-рожевого кольору зникають при натискуванні.

Ускладнення висипного тифу різні і пов'язані зі змінами судин і нервової системи. Часто розвиваються: трофічні виразки шкіри тулуба і кінцівок, пролежні, гангрена кінцівок; гнійні паротит та отит; бронхопневмонії; сепсис.

Спорадичний висипний тиф, або **хвороба Брілла**, являє собою різновид висипного тифу, який може виникнути через багато років в осіб, які хворіли на епідемічний висипний тиф. Хвороба Брілла характеризується легшим перебігом, ніж епідемічний висипний тиф, появляється при відсутності вошивості і ніколи не переростає в епідемію. Морфологічні зміни аналогічні з описаними вище при епідемічному висипному тифі, але виражені в меншому ступені. Чисельні мікробіологічні дослідження довели, що *R. prowazekii*, яка спричиняє рецидивну форму висипного тифу (хворобу Брілла-Цінссера), не відрізняється за морфологічними, біологічними та антигенними властивостями від «класичного» штаму, який зумовлює епідемічний висипний тиф. Це явище пояснюється тим, що рикетсії Провасека здатні утворювати форми, які фільтруються, і їм не притаманні патогенні та імуногенні властивості. Такі форми здатні зберігатися в організмі реконвалесцента внутрішньоклітинно поза досяжністю імунної системи протягом десятків років. Через певний час внаслідок деяких обставин (зниження специфічного імунітету, інші невивчені умови) рикетсії перетворюються на типові форми і спричиняють захворювання, яке перебігає з менш виразною клінічною картиною, ніж після первинного інфікування. Але хворі на хворобу Брілла-Цінссера становлять значну епідеміологічну небезпеку. Так, спостереження виявили, що саме легкі, нерозпізані форми хвороби Брілла-Цінссера за наявності педикульозу ставали початком епідемії висипного тифу з тяжким клінічним перебігом і високою летальністю.

Лабораторна діагностика рикетсіозів. Існує важливе епідеміологічне правило: «Діагноз висипного тифу повинен бути встановлений до 3-го дня хвороби». Це пов'язано з тим, що саме до цього терміну захворювання воші в масовому порядку намагаються покинути хворого, тому що їх не влаштовує його висока температура тіла.

Отже, саме тоді людина і представляє максимальну загрозу для оточуючих. Тільки негайна санітарна обробка може запобігти зараженню здорових.

Серологічні реакції. Виділення збудника є трудомістким та небезпечним процесом, тому у широкій клінічній практиці не використовується. Поширені колись реакції Вейля-Фелікса та реакція зв'язування комплементу ВООЗ вважає натепер недоцільними для використання.

Найбільш простою і доступною є реакція аглютинації рикетсій (РАР). Вона вважається реакцією першої ланки. Аглютиніни до рикетсій Провасека виявляються з 6-7-го дня хвороби у більшості хворих, і з другого тижня — майже у всіх. Реакція вважається позитивною при розведенні сироватки 1:40-1:80 і визначається протягом року після перенесеного захворювання у титрах 1:10-1:20.

РНГА є реакцією вторинної ланки і стає позитивною з 3-4 дня хвороби і зберігається до 6-го місяця реконвалесценції, тому дозволяє визначати свіжі або недавні випадки захворювання. Діагностичні титри 1:1000-1:2000.

РНІФ є найбільш чутливою серологічною реакцією для діагностики епідемічного висипного тифу та рекомендована до застосування ВООЗ як «золотий стандарт». Реакція вже наприкінці першого тижня визначається у великих титрах 1:320-1:2560, а на 10-15-й дні — 1:2560-1:10240.

У останні роки все більше використовується ІФА, за допомогою якого також можна виявляти окремо IgM та IgG. Інтерпретація результатів аналогічна такій при РНІФ.

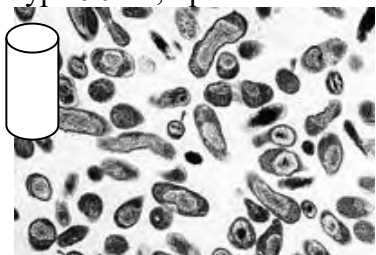
Усі серологічні реакції необхідно проводити у парних сироватках, щоб простежити динаміку антитіл.

Розмежування при діагностиці первинного епідемічного висипного тифу та хвороби Брілла-Цінссера проводиться на основі визначення у хворих класів специфічних імуноглобулінів із застосуванням антивидових проти IgM та IgG флуоресціюючих глобулінів (сироваток). При первинній інфекції спостерігається спочатку поява IgM, а пізніше — IgG. При хворобі Брілла-Цінссера вже на початку антитілоутворення відбувається інтенсивний синтез IgG. Тому виявлення антитіл класу IgG до 19-го дня хвороби є характерним лише для хвороби Брілла-Цінссера.

Лікування. Усі хворі в Україні, у яких клінічно запідозрено епідемічний висипний тиф чи хворобу Брілла-Цінссера, підлягають обов'язковій госпіталізації до інфекційного стаціонару. Лікування проводять доксицикліном. Позитивний ефект від антибіотиків проявляється досить рано — температура тіла нормалізується уже на 2-3-ю добу, зменшується вираження загальнотоксичного синдрому, головний біль, загальна слабкість, покращується апетит.

Ку-гарячка, або пневмотропна пневмонія — гостре інфекційне захворювання, яке перебігає з гарячкою та ураженням легень.

Збудник — рикетсії Бернета — стійкі до впливу факторів навколишнього середовища; на одязі зберігаються протягом місяця, у воді — більше 4 місяців, у свіжому м'ясі при температурі 4-8 °С — протягом 30 днів, в засоленому м'ясі — навіть до 90 днів, в молоці, сирі, кефірі — до 30 днів; але гинуть протягом години при нагріванні молока до температури 90 °С, при його кип'ятінні гинуть через 10 хв.



На сьогодні морфологічно виділяють так звані спорові і вегетативні форми коксіел. При електронній мікроскопії у вегетативних форм, тобто форм активного росту і розмноження, виявляється виразна тришарова оболонка, до якої зсередини прилягає шар гранулярної цитоплазми з ліпополісахаридом, обмежений плазматичною мембраною. При подальшому розвитку інфекційного процесу, з виснаженням можливостей для подальшого росту і розмноження інфікованої клітинної культури, коксіели переходять в спорову форму,

яка характеризуються ущільненням всіх елементів збудника, потовщенням оболонки його, згортанням генетичного матеріалу. Споріві форми зазвичай опиняються за межами зруйнованих клітин хазяїна, тобто в навколишньому середовищі. У подальшому вони можуть бути знову фагоцитовані і знову почати свій цикл внутрішньоклітинного розвитку.

Вирощувати коксієли можна тільки на клітинних середовищах (найчастіше — у жовткових мішках курячих ембріонів, які розвиваються). З лабораторних тварин найбільш чутливі морські свинки.

Розрізняють 6 штамів *C. burnetii*: *Hamilton, Vacca, Rasche, Biotzere, Corazon, Dod*. При розмноженні в культурах клітин мишачих ембріонів і макрофагоподібних клітинах відзначено «асиметричний» тип ділення клітин-мішеней. Виникаючі дочірні клітини стають нерівноцінними. Одні з них, як і раніше, залишаються інфікованими коксієллами, тоді як інші — вільні від збудника. Такий механізм забезпечує персистенцію коксієлл в культурі клітин, оскільки відповідно заражена клітинна культура не гине. Імовірно такою особливістю взаємин чутливої клітини і коксієлл можна пояснити хронізацію коксієльоза в організмі людини.

Джерелами рикетсій Бернета є багато ссавців, тварини і птахи. Домашні тварини (корови, вівці, кози, кури, гуси, качки) заражаються від диких при укусах кліщами, а збудників виділяють з екскрементами, молоком, навколоплодовою рідиною. Людина заражається при вдиханні пилу, який містить рикетсії (на виробництвах, пов'язаних з обробкою вовни, хутра і шкіри тварин), використанні соломи і сіна, забруднених екскрементами хворих тварин; вживанні в їжу зараженого сирого молока і продуктів, приготованих з нього. Можливе зараження через пошкоджену шкіру при догляді за хворими тваринами, при їх забої, наданні їм ветеринарної допомоги, особливо при пологах. Не виключається можливість зараження людей під час купання у водосховищах, забруднених виділеннями хворих тварин.

Інкубаційний період триває від 1 до 4 тижнів. Захворювання починається знезапек, температура підвищується до 39-40 °С. Температура тримається до 2 тижнів, потім поступово знижується. Відзначається головний біль, біль в м'язах (особливо поперекових і гомілкових), слабкість, безсоння. Нерідко бувають нудота, блювота, носові кровотечі, особливо у дітей. Як правило уражаються легені: появляється сухий кашель, інколи з мокротою.

Специфічна діагностика є обов'язковою, при цьому використовують реакцію непрямой імунофлюоресценції, ІФА, рідше використовується реакція зв'язування комплементу (РЗК), вона вважається менш чутливою через хибнопозитивні результати при легіонельозі або лептоспірозі. ПЛР можлива у перші 2 тижні гарячки або при хронізації процесу.

Волинська гарячка (син.: гарячка окопна, траншейна, п'ятиденна пароксизмальна, молдавсько-валахська, хвороба Вернера-Гіса, англ. Trench fever, Quintan fever, Wolhynian fever) — гостра інфекційна хвороба, яку спричинює *Bartonella quintana*. Хворобу переносить та передає платтяна воша. Волинська гарячка характеризується повторними чотири-п'ятиденними нападами гарячки, болем у кістках і м'язах, розеольозним висипом. Раніше цю хворобу тривало відносили до рикетсіозів, однак на сьогодні її класифікують до групи бартонельозів як і системний бартонельоз (хвороба Карріона/гарячка Оройя — перуанська бородавка), хворобу котячої подряпини, бацилярний ангіоматоз, пеліозний гепатит. Хоча й надалі подекуди «традиційно» волинську гарячку нерідко продовжують розглядати як представника групи так званих «пароксизмальних рикетсіозів», це є застарілим і помилковим згідно багатьох етіологічних, епідеміологічних, патогенетичних та клінічних факторів. Багато бартонельозів на теперішній час вважають опортуністичними інфекціями, що відбуваються у людини при зниженні імунітету.

Ці бактерії поліморфні, грамнегативні, рухомі, спор та капсул не утворюють, факультативні внутрішньоклітинні паразити, анаероби. Для їх зафарбовування використовують метод Романовського-Гімзи. Колір залежить від форми. *B. quintana* культивують на твердих поживних середовищах та безклітинних рідких середовищах з додаванням 5 % вуглекислого газу. Вони не розмножуються у жовтковому мішку курячих

ембріонів. Оптимуму температури для розмноження +28-30°C. *B. quintana* є малопатогенною для лабораторних тварин і малочутливою до дезінфекційних засобів. Має токсичні ліпополісахариди, а також фактори, що пригнічують імунну відповідь.

Джерелом інфекції є людина, хвора на гостру форму хвороби, реконвалесценти (до 300—400 днів у крові мають бартофель), а також хворі на хронічну форму, як це встановлено в останні роки. Є припущення, що існують джерела та резервуари у тварин в природних умовах. Виявлена останнім часом *B. quintana* у хатніх котів. Волинську гарячку відносять до хвороб з трансмісивним механізмом передачі. Переносник — платтяні воші *Pediculus humanus humanus*. Під час смоктання крові у воші відбувається дефекація, а в ділянці рани ці продукти життєдіяльності спричинюють у людини свербіж. Таким чином, розчухуючи місце укусу, людина заносить фекалії в рану. Воші стають заразними через 5-16 днів після контакту з хворою людиною, коли в їх кишечнику накопичується достатня кількість бартофель. Зараження відбувається так само, як і при епідемічному висипному тифі — під час втирання екскрементів вошей, решток раздавлених ектопаразитів у пошкоджену шкіру. Можливе також зараження через забруднені екскрементами вошей речі. Так як збудник стійкий до факторів навколишнього середовища, можливий і аерогенний шлях зараження, з контамінованим бартофелями пилом, коли вони потрапляють на мікроушкодження слизових рота, носа чи ока.

Патогенез. Після проникнення збудника через ушкоджені шкірні покриви або слизові оболонки в організм, бартофель з током крові потрапляють в м'язи, паренхіматозні органи і кістковий мозок. Далі збудник розмножується позаклітинно, потрапляє в кров, що обумовлює бактеріємію та токсемію. Ліпополісахариди пригнічують рецептор TOL-4, що є головним захистом клітин організму проти бактеріальних токсинів[. Відбувається ураження ендотелію та еритроцитів, де збудник розмножується з формуванням відповідних бартофельозних включень. При цьому завдяки факторам бартофель пригнічується апоптоз, збільшується утворення прозапальних цитокинів, проявляється ангіоматоз з можливою оклюзією судин. Збільшення виробки інтерлейкіна-10 моноцитами під впливом збудника призводить до слабкої імунної відповіді і можливості формування хронічного перебігу. При цьому виразного тромбонекротичного запалення ендотелію судин немає, геморагічний синдром не розвивається. Поява антитіл призводить в решті решт до видужання. Через доброякісний характер хвороби відсутні значні патоморфологічні дослідження, не з'ясовано багато ланок патогенезу волинської гарячки.

Клінічні прояви. Хвороба починається досить часто так гостро, що хворі можуть вказати не тільки день, але й час захворювання. Найбільш характерною клінічною ознакою є гарячка з короткочасними нападами. Напад гарячки може тривати 3-7 днів, найчастіше 4-5. Під час нападів гарячки стан досить тяжкий. Після нападу гарячки настає період апірексії тривалістю 3-8 днів. В середньому може бути до 4-х нападів, Навіть після закінчення нападу зберігається субфебрилітет протягом 7-10 днів. Вже протягом першого нападу гарячки з'являється висип — розеольозний, рідше плямисто-папульозний. Локалізується на спині та животі, згодом може поширюватись на кінцівки. Окремі плями іноді зливаються в еритематозні поля. Висип зникає через 3 дні після закінчення першого нападу гарячки, не залишає пігментації й зрідка може знову виникати під час наступних нападів.

Специфічна діагностика волинської лихоманки. Можлива бактеріологічна діагностика, але вона спрацьовує не завжди, потрібна висока кваліфікація лаборантів. За сучасними рекомендаціями кров хворих сіють на шоколадний агар та рідке бульйонне середовище. Збудник виділяють при температурі +33°C. Одним із методів також є ПЛР — найбільш достовірний метод дослідження. Його проводять як з кров'ю, так і з тканинами хворого. Використовують РНІФ, ІФА. Реакція зв'язування комплекменту стає позитивною на (15-20) день хвороби і в невисоких титрах (1:32-1:320). Мінімальні діагностичні титри (1:32-1:64). На даний момент в Україні діагностиками для визначення волинської гарячки не виробляються.

Замалювати рикетсії

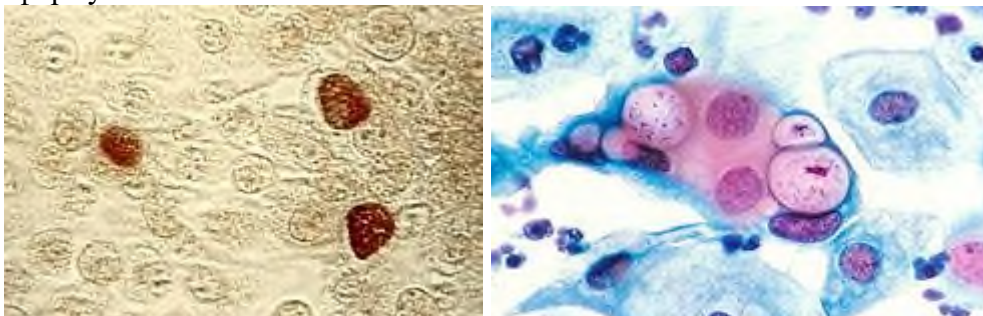
Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

**ТЕМА «Мікробіологічна діагностика мікоплазмозів, хламідіозів»
Теоретичні питання**

3. Загальна характеристика мікоплазм.
4. Загальна характеристика хламідій.
5. Захворювання, що викликаються хламідіями. Мікробіологічна діагностика хламідіозів.
6. Захворювання, що викликаються мікоплазмами.
7. Мікробіологічна діагностика мікоплазмозів.
8. Патогенні хламідії. Особливості морфології, репродукції. Захворювання, які вони викликають.
9. Методи лабораторної діагностики і профілактики хвороб. Хіміопрепарати для лікування.
10. Мікоплазми. Морфологічні, культуральні властивості патогенних мікоплазм. Захворювання, які вони викликають у людини.
11. Методи лабораторної діагностики. Лікування.

Хламідії (Chlamidiales) — єдиний ряд типу бактерій Chlamidiae, всі представники якого — **внутрішньоклітинні паразити клітин еукариотів**. Більшість описаних різновидів заражають ссавців і птахів, але деякі були знайдені в інших господарях, наприклад амебах. Спочатку вони розглядалися як єдиний рід Chlamydia, але зараз визнані декілька різних родів. Вони пов'язані з іншими бактеріальними групами, особливо Thermomicrobia, але тим не менш формують свій власний тип.



Хламідії мають життєвий цикл, який включає дві чітко різні форми. Інфекція має місце за допомогою елементарних тіл (EB), які метаболічно неактивні. Вони проникають до клітинних вакуолій, де вони перетворюються на більші сітчасті тіла (RB), які мають здатність до розмноження. Після декількох днів реплікації, RB перетворюються назад на метаболічно неактивні EB, які виходять назовні за допомогою лізису клітини або зливання мембран вакуолей з клітинною мембраною. Хламідії розповсюджуються повітряно-крапельним шляхом або при контакті.

Є три головні різновиди типу Хламідії, які вражають людей:

Chlamydia trachomatis, яка зумовлює трахоми ока і статеву інфекцію - хламідіоз;

Chlamydophila pneumoniae, яка спричиняє одну з форм пневмонії;

Chlamydophila psittaci, яка викликає орнітоз.

Хламідіоз (*Chlamydia trachomatis*) — поширене інфекційне захворювання, яке відноситься до сексуально-трансмисивних хвороб. Часто спостерігається у чоловіків (не гонорейний уретрит, епідидиміт, орхіепідидиміт, проктит та ін.), жінок (кольпіт, цервіцит, ерозії, уретрит, сальпінгіт тощо) і навіть у новонароджених (зараження відбувається під час пологів). Хламідіоз на сьогодні є одним з найпоширеніших захворювань, що передаються статевим шляхом. Найчастіше вражаються органи сечостатевої системи, рідше очі і суглоби.

Від стану імунітету людини багато в чому залежить і процес розвитку хламідіозу, при сильній імунній відповіді на впровадження мікробів в організм, наприклад, якщо з'явилися хламідії у чоловіків, симптоми захворювання можуть бути відсутні і організм сам здатний впоратися з ними. При одиничному випадку зараження (випадковий статевий контакт), якщо людина має міцне здоров'я, то хламідії гинуть, захисні сили організму не дають їм розмножуватися. Але якщо відбувається масивне зараження, регулярні статеві контакти з носієм хламідіозу, то організм не справляється з натиском інфекційних агентів і виникає запальний процес, який у 67% випадків у жінок і у 46% випадків у чоловіків проходить безсимптомно.

У таблиці подані можливі захворювання, що викликаються хламідіями у жінок, чоловіків та дітей.

Чоловіки	Жінки	Діти
<ul style="list-style-type: none">• Уретрит – це запалення сечовипускного каналу• Простатит – запалення передміхурової залози• Епідидиміт – запалення придатків яєчка• Проктит – запалення слизової оболонки прямої кишки• Орхіт – запалення яєчка• Везикуліт – запалення сім'яних пухирців• Кон'юнктивіт – запалення слизової оболонки очей	<ul style="list-style-type: none">• Кольпіт – запалення піхви• Ендометрит – запалення внутрішньої оболонки матки• Цервіцит – запалення шийкового каналу матки• Сальпінгіт – запалення маткових труб• Сальпінгоофорит – запалення придатків матки• Оофорит – запалення яєчників• Уретрит• Проктит• Кон'юнктивіт• Холецистит – запалення жовчного міхура	<ul style="list-style-type: none">• У новонароджених малюків найчастіше буває запалення кон'юнктиви• Запалення легенів• Запалення бронхів• Запалення носоглотки• Запалення середнього вуха• Вульвовагініт• Міокардит

Джерелом є хвора людина. Інкубаційний період становить від 7 до 30 днів. Запальний процес розвивається після потрапляння хламідій на чутливий до них циліндричний епітелій (у чоловіків — слизова уретри і прямої кишки, у жінок — слизова цервікального каналу, уретри і прямої кишки). Надалі процес може перейти на навколишні органи, викликаючи в них відповідну патологію. У хворих урогенітальними хламідіозами і їхніх статевих партнерів нерідко спостерігаються супутні запальні процеси іншої локалізації, що виникають при перенесенні збудника з сечостатевих органів на інші слизові: у очі, носоглотку, пряму кишку.



У чоловіків, крім запалення в сечовипускному каналі, хламідії є однією з основних причин запалення яєчка, частою причиною простатиту, безпліддя, хронічного запалення суглобів (хвороба Рейтера). У жінок хламідії можуть викликати запальні захворювання органів малого тазу (ендометрит, сальпінгіт, сальпінгоофорит), бути причиною позаматкової вагітності, викиднів, хронічного болю, безпліддя. У новонароджених, що народжені інфікованими жінками, часто розвивається хламідійне запалення очей і легенів.

Прояви. Діапазон клінічних проявів уrogenітальної хламідійної інфекції достатньо широкий: від виражених запальних явищ до відсутності якої-небудь симптоматики. Клінічні прояви уrogenітального хламідіоза у чоловіків і у жінок мають свої особливості через відмінності в локалізації первинних осередків ураження (сечовипускальний канал у чоловіків, цервикальний канал у жінок). Найбільш раннім клінічним проявом уrogenітального хламідіоза у чоловіків є запалення сечовипускального каналу. Початок клінічних проявів варіює від явної запальної реакції, що супроводжується явними виділеннями з сечовипускального каналу (гостра течія) до мізерних, ледве помітних слизистих виділень без характерних ознак запалення (підгострий або торпідний перебіг). У останньому випадку хворі часто не звертаються по медичну допомогу, що веде до хронізації процесу і розвитку ускладнень. Окрім виділень хворих може турбувати свербіння у області сечовипускального каналу, незначні різі при сечовипусканні.

Часто хламідіоз протікає безсимптомно і хворі звертаються до лікаря, коли вже проявляються серйозні ускладнення, зокрема імпотенція та безпліддя. У жінок інфекція, як правило, протікає з мінімальними проявами, а деколи і зовсім безсимптомно. Спочатку розвивається запалення сечовипускального і/або цервикального каналу. Хворих може турбувати свербіння в сечовипускальному каналі, біль при сечовипусканні, іноді прискорені позиви на сечовипускання. Проявами запалення цервикального каналу можуть бути відчуття вологості в статевих органах, відчуття тяжкості з невеликими болями, незначні виділення з піхви. Проте, найчастіше запалення розвивається без клінічних проявів, жінки не звертаються по медичну допомогу, що приводить до розвитку важких ускладнень. Часто саме клінічні прояви ускладнень хламідійної інфекції (запалення маткових труб, яєчників, безпліддя) примушують жінок звертатися до лікаря.

У хворих хламідіозом дуже часто виявляються інші збудники хвороб, що передаються статевим шляхом, зокрема - трихомоніаз. Зараження збудником хламідіозу в переважній більшості випадків відбувається разом з зараженням іншими збудниками хворіб, які передаються статевим шляхом, що, в свою чергу, утруднює діагностику та лікування хламідіозу.

Уrogenітальними ускладненнями хламідіозу у чоловіків є хламідійні простатит, уретрит, епідидиміт.

Не меншу небезпеку являє хламідіоз і для жінок, викликаючи різні ураження жіночої статевої системи. Сходження хламідійної інфекції по статевих шляхах може викликати запальні зміни з боку: шийки матки – ендocerвіцит. Хламідіоз збільшує ризик розвитку пухлинних процесів в шийці матки; слизової оболонки порожнини матки – ендометрит; фаллопієвих (маткових) труб – сальпінгіт; придатків матки – сальпінгоофорит.

Запальні процеси матки і придатків матки з подальшим утворенням спайок і рубців в маткових трубах служать причиною трубного безпліддя, позаматкової вагітності,

мимовільного переривання вагітності.

Особливу небезпеку становить хламідіоз новонароджених, що виникає в результаті інфікування дитини від хворої матері в процесі пологів. Основними формами вродженого хламідіозу є: хламідійний кон'юнктивіт (Офтальмохламідіоз) – запалення слизової оболонки очей, генералізована форма хламідіозу – ураження серця, легенів, печінки, травного тракту, енцефалопатія, що супроводжується судомою і зупинкою дихання, хламідійна пневмонія – вкрай важка форма запалення легенів з високим відсотком летальності.

Діагностика хламідіозу. Діагностика ґрунтується на даних анамнезу (тривало хворіють обидва партнери, безплідність). Остаточний діагноз встановлюють при виявленні хламідій у зіскребку з каналу шийки матки, піхви, уретри. Найточнішими є імуноферментні та імунофлюоресцентні методи.

Для виявлення хламідіозу також використовують серологічний метод дослідження, який полягає у виявленні в крові антитіл до збудника хламідіозу - хламідій. При цьому слід враховувати, що відносно високий рівень антитіл до збудника хламідіозу може ще довгий час залишатися в сироватці крові пацієнта після його вилікування.

Хламідії в клітинах утворюють цитоплазматичні включення, які можна виявити з допомогою методу Гімса або імунофлюоресценції. Включення *C. trachomatis*, на відміну від інших хламідій, містять глікоген і їх можна виявити з допомогою йоду. Включення інших хламідій глікогену не містять. Внутріклітинно розташовані хламідії ідентифікують у РІФ або реакції гібридизації з стандартною ДНК. Хламідійні антигени можна також виявляти в ексудатах або сечі в ІФА. Останнім часом набуває поширення індикація хламідій у сечі з допомогою ПЛР особливо при захворюваннях, які передаються статевим шляхом.

Серологічні методи діагностики вживаються при патологічних процесах, зумовлених *C. psittaci* і *C. pneumoniae*, і дуже рідко при захворюваннях, викликаних *C. trachomatis*, тому що має місце висока частота інфікування населення цим збудником, а значить і рівень антитіл у населення досить високий.

Види	Характер ураження	Серовари	Природний господар, механізм передачі
<i>C. trachomatis</i>	Трахома і пара трахома Урогенітальний хламідіоз і пневмонія новонароджених Венерична лімфогранулома	A, B, C D, F, G, H, I, J, K L ₁ , L ₂ , L ₃	Люди Статевий контакт, перинатальна передача
<i>C. psittaci</i>	Орнітози	13	Птахи Інгаляція сухих виділень птахів
<i>C. pneumoniae</i>	Пневмонія, ГРЗ, атеро-склероз, саркоїдоз, бронхіальна астма	TWAR, AR, KA і CWL	Люди Повітряно-крапельний

Лікування. При підозрі на хламідійну інфекцію або розвиток запальних захворювань сечостатевих органів і безпліддя необхідно звернутися до фахівця для обстеження і лікування. При виявленні хламідійної інфекції необхідне обов'язкове обстеження і лікування всіх осіб, що мали з хворим статеві контакти, незалежно від наявності у них клінічних проявів. На час лікування забороняють статеве життя, вживання алкогольних напоїв, гострої їжі, тривалі фізичні і психічні перевантаження. Для лікування використовують антибіотики з групи тетрацикліну, макролідів (кларитриміцин, еритроміцин), фторхинолонів. Іноді потрібно декілька курсів антибіотикотерапії. При необхідності, особливо при тривалому протікаючій інфекції, проводять імунотерапію. Окрім цього, при розвитку ускладнень проводять симптоматичне їх лікування.

Складність лікування хламідіозу дуже часто пов'язана з одночасним невиявленим та невилікованим трихомоніазом, збудник якого значно більший розмірами, захоплює хламідії

всередину, чим унеможлиблює дії на них антибіотиків. Найчастішою причиною неуспішного лікування хламідіозу є невилікуваний трихомоніаз. Щоб вилікувати хламідіоз з одночасно наявним трихомоніазом, необхідно спершу виявити та вилікувати трихомоніаз, лікування якого внаслідок стійкості до препаратів також може бути тривалим. Діагностування трихомоніазу часто дуже утруднене на фоні мертвих клітин епітелію та наявністю атипичних форм збудника трихомоніазу, якого дуже важко виявити за допомогою мікроскопа.

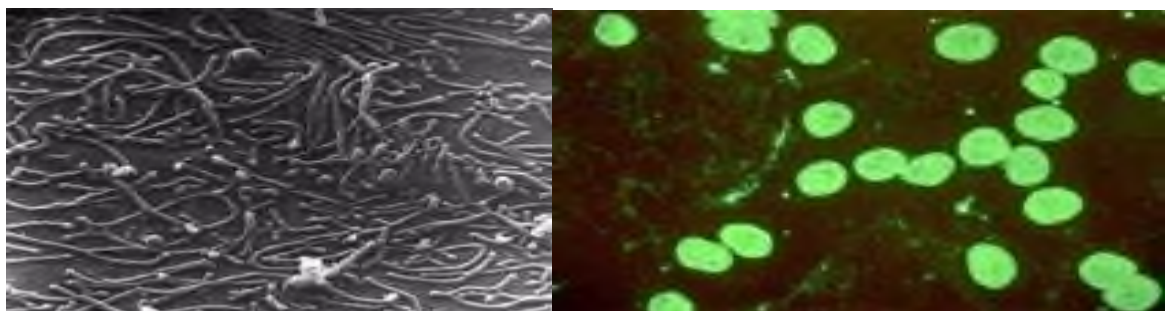
Профілактика. Використання при статевих контактах презервативів. Широке обстеження на хламідії: обов'язковому обстеженню підлягають жінки при перериванні вагітності і при пологах, а також пари, що звертаються з приводу безпліддя

Замалюйте у вигляді схеми життєвий цикл розвитку хламідій

Мікоплазми

Мікоплазмози - антропонозні інфекційні хвороби, що характеризуються враженням органів дихання, сечостатевих органів, центральної нервової системи та внутрішньоутробним ураженням плода.

Етіологія. В даний час відомо понад 40 видів мікоплазм, виділених з різних джерел (від кіз, овець, великої рогатої худоби, свиней, гризунів, птахів, а також від здорових і хворих людей). Від людини виділено 9 видів мікоплазм, але в патології має значення тільки три види: *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* (Т-*Mycoplasma*). Загальними властивостями мікоплазм є: невеликі розміри (150-225 нм); здатність розмножуватися на безклітинних середовищах (на відміну від вірусів і хламідій); виражений поліморфізм (через відсутність ригідної оболонки), потреба в стеролу (холестерин і ін); загибель під дією дистильованої води; стійкість до дії сульфаніламідів, пеніциліну, стрептоміцину і чутливість до антибіотиків тетрациклінової групи (Т-мікоплазми, крім того, чутливі до еритроміцину); відсутність реверсії мікоплазм на відміну від L-форм бактерій. При зростанні на спеціальних поживних середовищах (досить складних за складом) мікоплазми утворюють невеликі колонії з темним центром та більш світлою периферією (форма, що нагадує яєчню) діаметром до 1-1,5 мм.



Дуже дрібні колонії (всього 15-20 мкм в діаметрі) утворюють Т-мікоплазми, звідки і відбулася їх назва (від англ. Tiny - дуже маленький, крихітний). Особливістю Т-мікоплазм є їх абсолютна потреба в сечовині. Тільки вони мають ферменти для розщеплення сечовини,

вибірково придушуються еритроміцином і калію ацетатом і, навпаки, цей вид стійкий до лінкоміцину, переважній зростання інших видів мікоплазм. Т-мікоплазми поділяються на 11 серотипів. Мікоплазми займають проміжне положення між вірусами, бактеріями, грибами та найпростішими.

Епідеміологія. Джерелом інфекції є тільки людина, хвора мікоплазмозом або здоровий носій мікоплазм. Передача інфекції може здійснюватися повітряно-крапельним шляхом і статевим шляхами; від матері плоду (внутрішньоутробно або під час пологів). Мікоплазмоз більш поширений у знову сформованих колективах, де за перші 2-3 міс інфікуються, судячи по наростанню титру антитіл до 50% осіб, що входять в колектив. Питома вага мікоплазмозом серед гострих респіраторних захворювань, що протікають з переважним ураженням верхніх дихальних шляхів, дорівнює 5-6% до загального числа хворих, а при гострих пневмоніях - від 6 до 22% всіх хворих пневмоніями. Під час епідемічних спалахів питома вага мікоплазмозом може підвищуватися до 50% і більше. Підвищення захворюваності мікоплазмозом часто поєднується з підвищенням захворюваності гострими респіраторними захворюваннями іншої етіології. Мікоплазми частіше зустрічаються в холодну пору року. Сечостатевий мікоплазмоз у вигляді негонококкового уретриту у чоловіків і запальних захворювань тазових органів у жінок спостерігається значно рідше у порівнянні з хламідіозом і гонореєю. Нерідко спостерігаються поєднані захворювання, а також здоровий носійство мікоплазм (у 30-40% жінок), що створює загрозу передачі інфекції плоду. Внутрішньоутробне інфікування може виникнути в результаті висхідної інфекції (рідше гематогенно), висока небезпека інфікування плоду під час пологів. При інфікуванні в ранні терміни вагітності може наступати мимовільний аборт.

Патогенез. При повітряно-крапельному шляхи передачі воротами інфекції частіше служать слизові оболонки респіраторного тракту, що підтверджується дослідженнями на добровольцях, у яких вдалося викликати захворювання при введенні збудника в дихальні шляхи. Про це ж говорить і переважне ураження органів дихання. Впровадження збудника може відбуватися в слизові оболонки сечостатевих органів (при статевому шляху передачі інфекції). Що стосується Т-мікоплазми, то вона може існувати тільки в сечостатевих органах (через потребу в сечовині) і для неї характерний тільки статевий шлях передачі інфекції, а воротами інфекції є слизова оболонка сечостатевих органів.

Інфікування мікоплазмами не завжди веде до захворювання, про що свідчать виділення мікоплазм від здорових людей, а також поява протівомікоплазменних антитіл у великої кількості новобранців без перенесення ними захворювання. Про генералізації інфекції свідчить також виявлення мікоплазма в кістковому мозку, лімфатичних вузлах, тканини легені. Зміни в різних органах можуть бути обумовлені не тільки розвитком в них мікоплазм, але і токсичними речовинами, які вони можуть продукувати. Так, деякі види мікоплазм тварин продукують нейротоксин, що має токсичну дію на нервову систему, вражає капіляри, робить проникним гематоенцефалічний бар'єр. Імунітет при мікоплазмозі напружений, що робить перспективною роботу зі створення вакцин. У патогенезі мікоплазмозу велике значення має нашарування інших інфекційних агентів, переважно бактеріальних.

Інкубаційний період триває від 4 до 25 днів (частіше 9-12 діб). Описані наступні клінічні форми хвороби: гострі респіраторні захворювання (фарингіти, ринофарингіти, ларинго-фарингіти, бронхіти); гострі пневмонії; абактеріальний уретрит; менінгеальні форми; маловивчені захворювання (запальні захворювання органів малого тазу у жінок, внутрішньоутробне ураження плода). Крім того, мікоплазменная інфекція може протікати у безсимптомній формі (інапаратной при респіраторному мікоплазмозі і латентної - при сечостатевому мікоплазмозі, останній характеризується тривалим персистуванням збудника в організмі).

Гострі респіраторні захворювання. Ця форма мікоплазмозу зустрічається найчастіше у військовослужбовців, студентів перших 1-3 міс служби, навчання (підвищена захворюваність може зустрічатися і в інших знову сформованих колективах). Мікоплазми обумовлюють до 5% всіх гострих респіраторних захворювань. Ці захворювання, також як і гострі пневмонії, обумовлені *M. pneumoniae*. Хоча в експерименті на добровольцях показано, що інгаляція великої дози *M. hominis* може зумовити виникнення ексудативного фарингіту, однак в природних умовах ця мікоплазма викликає захворювання тільки сечостатевої системи. Температура тіла нормальна або субфебрильна. Хворі скаржаться на болі в горлі, нежить, іноді кашель, помірні болі в м'язах. Слизові оболонки зіву, м'якого піднебіння гіпереміровані, кілька набряклі, іноді відзначається зернистість слизової оболонки зіву. Мигдалини помірно збільшені. Зміни в зіві тримаються близько 7 днів. У деяких хворих в процесстві гортань, трахея, бронхи. Загальне самопочуття також не порушується; короткочасно підвищується температура тіла до 37 ° С. Ускладнень при цій формі зазвичай не буває. Найбільш частою ознакою ураження органів дихання є кашель. Він спочатку буває сухий, потім починає відділятися слизова мокротиння, дуже рідко відзначається домішки крові в мокротинні. У хворих часто відзначається нежить, біль і першіння в горлі, гіперемія слизової оболонки ротоглотки. Дещо рідше відзначається захриплість голосу, задишка. Ускладнення можуть бути обумовлені як самою мікоплазмою, так і бактерійну інфекцію.

Лабораторна діагностика. Виділити мікоплазми досить складно, так як вони ростуть тільки на спеціальних середовищах, що містять багато компонентів або на культурі тканин. В даний час добре відпрацьована лише методика виявлення Т-мікоплазм. При використанні елективного уреазного середовища вже через 24-28 год по зміні кольору середовища (з жовтого на червоний) можна виявити наявність Т-мікоплазм. Для діагностики частіше використовують **серологічні реакції** (РСК, непрямой гемаглютинації, визначення холодних агглютининів). Досліджують парні сироватки, так як наявність проти мікоплазменних антитіл (в невисоких титрах) відзначається у 60-80% здорових осіб. Першу сироватку беруть до 6-го дня хвороби, друге - через 10-14 днів. Діагностичним вважається наростання титру антитіл в 4 рази і більше. РГГА є більш чутливою. РСК і РНГА служать для виявлення антитіл, при обстеженні вагітних або хворих уретритами вона не використовується. Отже, позитивна РСК з мікоплазмових антигеном у вагітної не вказує на інфікованість генітальними мікоплазмами і не може служити обґрунтуванням для лікування вагітних жінок.

Mycoplasma pneumoniae – причина 20% всіх пневмоній, викликає фарингіт, трахеобронхіт, синдром Стівенса-Джонса, гемолітичну анемію, менінгіт, ураження периферичних відділів ЦНС, Серцево-судинної системи, опорно-рухового апарату тощо.

Mycoplasma hominis і *Ureaplasma urealyticum* викликають захворювання сечостатевої сфери.

Mycoplasma hominis – у мужчин є причиною уретритів і простатитів; у жінок – уретритів, цервіцитів, запальних процесів тазових органів.

Ureaplasma urealyticum – спричиняє післяпологовий сепсис; в зв'язку із здатністю виділяти велику кількість уреаз цей мікроорганізм відіграє активну роль у виникненні сечокам'яної хвороби.

Дати відповіді:

Особливістю	будови	мікоплазм
Є _____		

Патогенні властивості мікоплазм пов'язані з наступними факторами

патогенності:

Практична робота

Вивчити та записати препарати для діагностики хламідіозів, мікоплазмозів.

Підпис викладача _____

Дата _____ № _____

Тема: Патогенні актиноміцети та гриби. Актиномікоз та мікози порожнини рота.

Мікробіологічна діагностика, препарати для лікування.

Основні питання теми:

1. Актиноміцети, морфологічні та культуральні властивості.
2. Актиномікоз порожнини рота.
3. Мікробіологічна діагностика, протимікробне лікування.
4. Мікроорганізми - симбіонти актиноміцетів порожнини рота –*Actinobacillus actinomycetocomitans*, *Eikenella corrodens*, *Rothia dentocariosa*, морфологічні та культуральні властивості, патогенна дія.
5. Класифікація та морфологія грибів, середовища для їх культивування.
6. Біологічні властивості мікроскопічних грибів.
7. Збудники поверхневих мікозів, клінічні прояви.
8. Збудники глибоких мікозів, клінічні прояви;
9. Цвільові мікози;
10. Мікотоксикози;
11. Гриби *Candida*, кандидоз порожнини рота.
12. Методи лабораторної діагностики мікозів.
13. Препарати для лікування мікозів.

Актиноміцети населяють слизові оболонки тіла людини, зокрема ротової порожнини. Постійно виявляються в зубних бляшках, складаючи до 70% усіх живих клітин, що входять до її складу. Патогенні і умовнопатогенні види актиноміцетів беруть участь у розвитку основних патологічних процесів зубів, періодонту, ротової порожнини, як правило, в симбіозі з іншими мікроорганізмами. Специфічний запальний процес, спричинений актиноміцетами (актиномікоз) найчастіше уражає тканини порожнини рота.

Актиноміко́з (грец. *актіс* — промінь і *μυκησ* — гриб) — хронічне захворювання людини та деяких сільськогосподарських тварин, яку спричинюють особливі бактерії актиноміцети, яких раніше відносили до грибів. Залежно від локалізації інфекції розрізняють 9 видів актиномікозу: шийно-лицевий, бронхіомікоз, пневмомікоз, черевний,

шкірний, кістково-суглобовий, хребтовий, нервовий, генералізований.

Клінічні прояви. Виникнення пухлиноподібних запальних утворень (інфільтратів дерев'янистої щільності) синюшно-червоного забарвлення в м'яких тканинах навколо щелеп, на шиї, рідше в легенях, у кишечнику та інших місцях. З часом відбувається загноювання вогнищ, розм'якшення, флуктуація, а потім розвиток свищів. Процес носить хронічний характер.



Гній містить велику кількість актиноміцетів.

Значення актиноміцетів у розвитку карієсу зубів і хвороб періодонту. Актиноміцети виявляються в мікробіологічних асоціаціях на поверхні зубів, ясен, у складі надгінгівальної та субгінгівальної мікрофлори. Колонізація порожнини рота актиноміцетами відмічена у дітей із 6-ти річного віку, їх виділяють з каріозних порожнин і вогнищ уражень при гінгівітах. Патогена дія *A. neaslundii*, *A. viscosus* і *A. odontoliticus* щодо тканин зуба і періодонту встановлена в експерименті на тваринах (хом'ячки та щурі). Патогенні види актиноміцетів мають фімбрії (фактор адгезії) Дія актиноміцети на тканини пов'язана із здатністю цих мікроорганізмів продукувати водонерозчинні полісахариди, які складають органічну строму зубної бляшки; здатністю продукувати органічні кислоти, що діють на мінеральні структури зубів. Актиноміцети виділяють також протеолітичні ферменти а також фактор хемоатракції, щодо поліморфноядерних лейкоцитів, мітоген для В-лімфоцитів, фактор що активує систему комплементу за альтернативним шляхом. Ці фактори сприяють розвитку запалення в тканинах періодонту. Патогенна дія актиноміцетів проявляється в асоціаціях з іншими мікрорганізмами, зокрема з *Str. mutatis*, а також з *Actinobacillus actinomycetocomitans*, *Eikenella corrodens*, *Rothia dentocariosa*.

Candida — рід анаморфних дріжджів. Кілька видів роду, найбільш відомий з яких *Candida albicans*, є опортуністичними патогенами, що викликають кандидоз — захворювання людини та інших тварин, особливо серед пацієнтів з імунодефіцитом, вони є мешканцями флори кишечника тварин.

Протягом кінця 20-го — початку 21 століття медичне суспільство усвідомило медичну важливість опортуністичних інфекцій, викликаних *Candida*, перш за все через збільшення числа імунодефіцитних пацієнтів, особливо хворих на СНІД, які надзвичайно сприйнятливі до опортуністичних інфекцій. Тим часом, було завершено секвенування геномів кількох видів *Candida*, допомагаючи дослідженню біології цих організмів з геномної точки зору. Дослідження *Candida* та інших дріжджів має важливе значення для знаходження методів лікування кандидозу та пов'язаних грибкових захворювань.

Гриби роду *Candida* є майже завжди в малих кількостях на здоровій шкірі дорослих а *C. albicans* є частиною нормальної флори слизових оболонок органів дихання, шлунково-кишкового тракту і жіночих статевих шляхах. Сухість шкіри в порівнянні з іншими тканинами запобігає зростанню грибків, але пошкоджена шкіра або шкіра в зонах складок більш схильна до швидкого зростанні. Надмірна поява декількох видів включаючи *C. albicans* може привести до інфекції, починаючи від поверхневих, таких як оральний кандидоз (молочниці) або вагінальний кандидоз, до системних, таких як фунгемія і інвазивний кандидоз. Оральний кандидоз часто зустрічається у людей, що носять зубні протези. У

здорових людей такі інфекції можуть бути вилікувані місцевими або системними протигрибковими засобами (звичайним безпосереднім протигрибковими ліками такими як міконазол або клотримазол). В ослаблених хворих або з імунодефіцитом, або при внутрішньовенному потраплянні, кандидоз може стати систематичним захворюванням, який породжує абсцес, тромбофлебіт, ендокардит, або інфекцій очей та інших органів. Зазвичай, лише відносно значна нейропенія є необхідною умовою для того, щоб *Candida* пройшла через захист шкірного покриву і викликала захворювання в більш глибоких тканинах, в таких випадках, фактором зараження більш глибоких тканин є пошкодження інфікованих ділянок шкіри.

Кандидоз порожнини рота. Види: *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.crusei*, *C.psillosis* та ін. (біля 20 видів) викликають ендегенні мікози (опортуністичні). В нормі входять до складу нормальної мікрофлори ШКТ, верхніх дихальних шляхів, зовнішнього слухового проходу, піхви. Класифікація кандидозів: поверхневі кандидози слизових оболонок ротової порожнини або піхви (молочниця), кандидоз шкіри (ураження великих складок), кандидоз нігтів, генералізовані: на фоні імунодефіциту (пневмонії, гастрити, гепатити, сепсис), вісцеральний: кандидоз ШКТ (дизбіоз), алергічна форма — на фоні первинного ураження виникають нові вогнища ураження, в яких відсутні збудники (кандидамікід).



Кандидоз шкіри



Клінічним проявом кандидозу в немовлят є "молочниця" - ураження слизової рота у вигляді білого нальоту. Зараження відбувається при пологах від хворої матері, проте можливі й інші шляхи інфікування. У дорослих найчастіше кандидоз ротової порожнини розвивається після тривалого застосування антибіотиків широкого спектру дії. При гострій формі на слизових з'являються білі точкові плямки, які поширюються з утворенням плівки, яка легко знімається тампоном. При алергічній реакції на гриби розвивається

гострий атрофічний кандидоз, при якому нальотів немає. Хронічний процес проявляється як хронічний гіперпластичний кандидоз або хронічний атрофічний кандидоз ураженням протезного ложа в осіб, що носять з'йомні протези.

Слід мати на увазі, що гриби *Candida* розмножуються на поверхні акрилових протезів.

Мікози — (лат. *mus* — *гриб*; *os* — *захворювання незапального характеру*) захворювання людини, що спричинені потогенними грибами. Друга половина ХХ століття характеризувалася помітним зростанням захворюваності на мікози. Широкого територіального поширення набула низка грибкових інфекцій, зокрема дерматофітій та вагінальний кандидоз (молочниця), що можна пояснити інтенсивною міграцією населення та зміною способу життя в індустриальних країнах. Це зростання не вдалося зупинити і після впровадження новітніх фармацевтичних засобів.

За даними ВООЗ, кожний п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожний десятий має виражені клінічні прояви. Частота інфікованості населення європейських країн мікозами стоп становить від 20 до 70% . Аналогічна ситуація склалася і в Україні. Цьому значною мірою сприяли соціальні, медичні та фармакологічні фактори. Серед перших слід виділити погіршення санітарно-просвітницької роботи, розширення мережі послуг для населення, таких як басейни, сауни, косметологічні кабінети, що за умови недотримання відповідних санітарних норм можуть бути вогнищами інфекції, а також певні проблеми у лікуванні хворих з грибковими захворюваннями із соціально неблагополучних прошарків населення. До медичних факторів можна віднести загальне погіршення показників імунітету серед населення, використання інвазивних методів діагностики, зростання кількості випадків захворювань, що часто супроводжуються грибковими інфекціями (цукровий діабет, онкологічні захворювання, ВІЛ-інфекція).

Серед лікувальних чинників провідна роль належить застосуванню антибіотиків широкого спектра дії, використанню імуносупресивних препаратів при трансплантації органів тощо. Не останнє місце посідають і недоліки існуючих препаратів, такі як недостатня клінічна ефективність, токсичність, побічні ефекти. Таким чином, проблема мікозів змушує медиків та фармацевтів усього світу концентрувати зусилля для її вирішення.

Сьогодні відомо більше 400 видів грибів, здатних викликати захворювання у людини. Проблема мікозів зумовлена певним чином тим, що досі не існує загально визнаної класифікації цих захворювань. У Міжнародній класифікації хвороб прийнято іншу схему:

I. Мікози шкіри й слизових оболонок (поверхневі мікози) – уражають тільки шкіру та її придатки, а також поверхневі шари слизових оболонок. Інфікування відбувається внаслідок прямого контакту з активним вогнищем. При цьому ураження власне шкіри називаються дерматомікозами, волосся – трихомікозами, нігтів – оніхомікозами. До цієї групи відносять дерматофітії, маласезіози, поверхневі кандидози, а також деякі рідкісні тропічні мікози.

Збудники дерматомікозів відносяться переважно до дерматофітів - грибків *Microsporium*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*, здатним засвоювати керотин.

Патогени викликають дерматомікози - велику групу шкірних захворювань, до яких відносяться пахова епідермофітія, епідермофітія стоп, фавус, трихофітія, мікроспорія (дивіться на фото).



Захворювання цієї групи не становлять загрози для життя, часто обмежуються локальними ділянками і створюють переважно косметичні проблеми. Рідко, лише в осіб з імунодефіцитами, вони уражають прилеглі до шкіри тканини.

Грибкові захворювання провокують грибки з роду *Malassezia*, що викликають різнокольоровий лишай, висівковий лишай, себорейний дерматит. Захворювання, викликані *Malassezia*, відносяться до кератомікозів, вони зачіпають лише найповерховіший роговий шар шкіри .



Для всіх видів дерматомікозів характерні деякі загальні симптоми:

- червоні округлі плями на шкірі,
- поприлості шкіри, лущення,
- деформація, зміна структури нігтя,
- зміни в області міжпальцевих складок,
- свербіж в ураженій області.



Для різних ділянок шкіри характерні специфічні особливості перебігу інфекції. При дерматомікозі волосистої частини голови утворюються вогнища облісіння - алопеції (фото). Збудники мікроспорії та трихофітії розвиваються в волоссі і волосяному фолікулі, викликаючи повну або часткову втрату волосся на ураженій ділянці.

При мікроспорії волосся обламуються в декількох міліметрах над шкірою, при трихофітії - випадають, залишаючи чорну крапку.

Вогнища грибкового захворювання шкіри можуть локалізуватися на обличчі. Грибок вражає частіше шию, підборіддя, нижню губу. Гриб *Trichophyton verrucosum* викликає дерматомікоз бороди, при якому відзначається ушкодження волосяних фолікул, набряк ураженої області, поява в осередку інфекції кров'яних корок. Мікоз шкіри кистей (показано на фото) супроводжується лущенням, тріщинами в міжпальцевих складках.



Грибок часто селиться на шкірі стоп, вражаючи в першу чергу міжпальцевих складки, підошви. Симптомами грибкової інфекції стоп служать почервоніння шкіри, поява тріщин,

бульбашок між пальцями - зазвичай між 5 і 4, 4 і 3. На шкірі підошви зараження проявляється потовщенням рогового шару, появою тріщин. На бічній поверхні стопи утворюються бульбашки, що поступово зливаються в кілька великих бульбашок. Після їх самостійного розкриття залишаються осередки виразки з нерівно окресленим краєм.

Дерматомікоз гладкої шкіри тулуба проявляється чітко окресленими округлими плямами з піднесеним по межі валиком. Розташовуються плями на плечі, спині, передпліччі, шії, грудях.



Грибок на шкірі супроводжується лущенням, еритемою, висипаннями на уражених ділянках (як показано на фото), викликається в основному *Tr. rubrum*, *Tr. mentagrophytes*, *Microsporum canis*.

Паховий дерматомікоз викликають трихофіти, епідерматофіти і гриби з роду кандиди. Вогнища ураження відзначаються на внутрішній поверхні стегна, в промежині, на геніталіях, в паху. Паховий грибок або «жокейський свербіж» відзначається і у жінок, і у чоловіків. Передається при безпосередньому контакті, страждають пахових грибком (див. Фото) частіше дорослі чоловіки.



Пахова дерматофітія характеризується висипаннями червонувато-коричневого кольору з чітко окресленою краєм (як на фото). На інфікованих ділянках можуть з'явитися тріщини, водянисті пухирці. Здорова шкіра, що межує з висипанням, червоніє, і також починає лущитися.

- **II. Підшкірні мікози** – уражають дерму й більш глибокі м'які тканини, що лежать під шкірою. Ці захворювання називають хворобами імплантації, оскільки зазвичай вони виникають при потраплянні грибів внаслідок травми. Основні вогнища ураження знаходяться в дермі та гіподермі, залучення до інфекційного процесу м'язів, кісток та суглобів відбувається рідко, ще рідше виникає фунгемія. Сюди належать хромомікоз, споротрихоз, еуміцетома, феогіфомікози і низка інших рідкісних мікозів.

- **III. Опортуністичні глибокі мікози** – група інфекцій, викликаних умовно-патогенними грибами, що розвиваються на фоні важкого імунодефіциту. Збудниками таких хвороб є сапрофіти, що проникають із зовнішнього середовища або існують ендемічно. Ці мікози є постійними супутниками СНІДу, супроводжуються ураженням внутрішніх органів і більш глибоких тканин. До них відносять глибокі кандидози, аспергільоз, мукороз, криптококоз.

- **IV. Ендемічні глибокі мікози** (системні, респіраторні) – група інфекцій, викликаних диморфними грибами, що живуть у ґрунті певних географічних областей. Відрізняються

респіраторним механізмом передачі, виникають при вдиханні спор із повітрям. Первинне вогнище ураження завжди знаходиться в легенях. Такі мікози здатні до дисемінації із залученням будь-яких внутрішніх органів, що робить прогноз за відсутності лікування несприятливим. До цієї групи належать гістоплазмоз, бластомікоз, паракокцидіоз, кокцидіоз, ендемічний пеніциліоз. Клінічні прояви мікозів різноманітні. Так, для поверхневих мікозів характерні неглибокі, на рівні епідермісу та дерми, елементи висипки (плями, папули, десквамація, за наявності свербіж – лінійні екскоріації, у подальшому – гіпер- та депігментації). Підшкірним мікозам властиві вузлики, ерозії, іноді – виразки шкіри. Глибокі мікози характеризуються наявністю вузликів та вузлів, а також вісцеральними ураженнями різної локалізації, подеколи розвиваються фунгемія та мікотичний сепсис.

Загальні принципи лікування протигрибковими препаратами (антимікотиками)

Протигрибкові препарати за хімічним складом можна поділити на такі основні групи :

- Похідні азолів:
 - імідазолу (кетоконазол, клотримазол, еконазол, міконазол, біфоназол);
 - триазолу (флуконазол, ітраконазол, терконазол).
- Похідні аліламінів (нафтифін, тербінафін).
- Протигрибкові антибіотики (ністатин, гризеофульвін, амфотерицин В, натаміцин).
- Похідні міристаміну (мірамістин).
- Похідні карбамотіоату (толциклат, толнафтат).
- Похідні ундециленової кислоти (мікосептин).

Отже, грибкові інфекції (мікози) – одна з найбільш гострих проблем сучасної медицини. Зусилля багатьох спеціалістів спрямовуються на розробку та впровадження заходів та засобів боротьби з ними. Великого значення в усьому світі надають розробці нових протигрибкових препаратів та схем лікування. У соціально-економічних умовах, що склалися сьогодні, дуже важливо враховувати економічну доступність лікарських засобів, що повинна адекватно корелювати з клінічною та мікробіологічною ефективністю.

Лабораторна діагностика поверхневих і глибоких мікозів

Матеріал для дослідження: кров, харкотиння, спинномозкова рідина, уражені тканини, гній, сеча.

Мікроскопічне дослідження.

мікроскопія “вісячої” та “роздавленої” краплі;
забарвлення за Грамом;
забарвлення за Романовським-Гімза ;
метод прямої імунофлюоресценції.

Мікологічне дослідження.

посів на середовище Сабуро, Чапека, сусло-агар; кров’яний агар, асцитичний агар (бластоміцети, гістоплазми), культивування при температурі 30°C;
ідентифікація грибів за морфологією та культуральними властивостями.

Серологічна діагностика.

РЗК (виявлення), латекс-аглютинація (виявлення);
Імуноферментний аналіз.

Біологічна проба.

зараження дослідним матеріалом лабораторних тварин (миші, пацюки, морські свинки);
приготування препаратів з уражених ділянок або органів, мікроскопія препаратів;
посів матеріалу на середовище Сабуро, ідентифікація за морфологією та культуральними властивостями.

Алергічна проба з бластоміцином, гістоплазміном, споротрихозним алергеном.

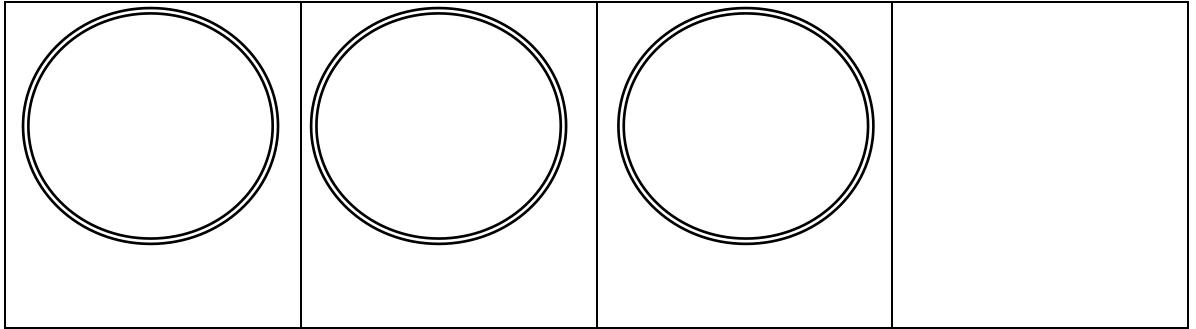
Виявлення нуклеїнових кислот (ланцюгова полімеразна реакція) (бластомікоз, гістоплазмоз, криптококоз):

екстракція ДНК з культури;

внесення одноланцюгової молекули ДНК, міченої флюоресцеїном.

Практична робота

Робота 1. Вивчення морфології актиноміцетів та грибів. **Замалювати** мікроскопічні препарати культур актиноміцетів, грибів роду *Candida*, нативні препарати ниткоподібних грибів.



Робота 2. Мікробіологічна діагностика актиномікозу (замалювати)

Замалювати друзи.

**Дати відповідь:
Ситуаційна задача.**

У хворого на СНІД із симптомами менінгіту проведено мікроскопічне дослідження спинномозкової рідини. На препаратах виявлені дріжджеподібні клітини з чітко вираженою капсулою. При посіві матеріалу на середовище Сабуро та після численних пересівів капсула зберігалась. **Збудник якого захворювання виділений із спинномозкової рідини?**

Відповідь:



При мікроскопічному дослідженні враженого волосся в нативних препаратах виявлені тонкі нитки рідко септованого міцелію, бульбашки повітря та краплинки жиру. При вивченні препарату виявлено і більш широкий міцелій, що розпадається на прямокутні клітини. Волосся не повністю заповнене елементами гриба.

Який збудник спричинив захворювання?

Відповідь:

Вкажіть захворювання, спричинені диморфними грибами:

- а) аспергільоз;
- б) бластомікоз;
- в) гістоплазмоз;
- г) споротрихоз;
- д) мукоромікоз.

Відповідь:

Робота 3. Мікробіологічна діагностика кандидомікозу порожнини рота. Описати характер колоній на середовищі Сабуро, замалювати препарат за Грамом, скласти схему досліджень

Підпис

викладача

Дата

Заняття № Тема. Патогенні найпростіші (протозої)

Збудники амєбіазу, лямбліозу, балантидіазу, лейшманіозів, трипаносомозу, трихомоніазу. Морфологія та біологічні властивості. Лабораторна діагностика захворювань.

1. Морфологія та будова клітини найпростіших.
2. Збудник амєбіазу. Морфологія. Лабораторна діагностика амєбіазу.
3. Лейшманії. Морфологія. Лабораторна діагностика лейшманіозів.
4. Трихомонади. Морфологія. Культивування. Лабораторна діагностика трихомоніазу.
5. Трипаносоми. Морфологія. Культивування. Лабораторна діагностика трипаносомозів.
6. Морфологія, біологічні властивості лямблій. Лабораторна діагностика лямбліозів.
7. Збудник балантидіазу. Морфологія. Культивування. Лабораторна діагностика балантидіазу.
8. Малярія. Морфологія. Культивування. Лабораторна діагностика
9. Токсоплазмоз. Морфологія. Культивування. Лабораторна діагностика
10. Особливості протипротозойного імунітету.
11. Основні напрямки в профілактиці захворювань, спричинених патогенними найпростішими.

Систематика найпростіших заснована на способах рухливості, розмноження та циклах їх розвитку. Тип Protozoa вміщує більш 30000 видів, які поділяють на 4 класи: джгутикові, саркодові, споровики та вїйчасті. Саркодові (*Sarcodina*) – переміщуються в просторі за допомогою псевдоподій. Представники – *Entamoeba histolytica*, *Ent. coli*. Джгутикові (*Mastigophora*) – переміщуються за допомогою джгутиків. *Trypanosoma rhodesiense* – збудник сонної хвороби, *Trichomonas vaginalis* – сапрофіт, представник мікрофлори нижніх відділів статевої системи. *Tr. hominis* зустрічається, головним чином, у роті (наявність хворих зубів), *Tr. intestinalis* заселяє товстий відділ кишечника людини. *Leishmania donovani*, *L. tropica* – збудники вісцерального лейшманіозу. Споровики (*Sporozoa*) – переміщуються за допомогою псевдоподій лише на ранніх стадіях розвитку, чоловіча та жіноча гамети мають джгутики. Представники: *Plasmodium vivax*, *Pl. malariae* – збудники малярії. Вїйчасті (*Ciliata*) – переміщуються за допомогою вїйок. Представник – *Paramecium caudatum*. *Balantidium coli*.



Найпростіші – одноклітинні еукаріоти, які мають більш вищу організацію, ніж бактерії. Вони не мають твердої клітинної оболонки, мембрана їх вміщує, на відміну від бактерій, хїтин, не мають целюлози (на відміну від рослин). Найпростіші складаються з цитоплазми, диференційованого ядра, еластичної клітинної мембрани. Розмножуються простим поділом, статевим шляхом, а також складним способом – чередуванням статевого та нестатевого поколінь (плазмодій малярії).

Розміри найпростіших коливаються в досить широких межах в залежності від їх

виду та фізіологічного стану. Більшість з них в сотні разів перевищують за розмірами бактерії. **Матеріал для дослідження:** виділення виразок, уретри, піхви, харкотиння, кров, пунктат грудини, печінки, випороження, спино-мозкова та плевральні рідини.

Малярія. Смертоносне захворювання, викликане найпростішими. Малярія є одним з п'яти найбільш "вбивчих" інфекційних захворювань. Збудник – бактерія роду плазмодія типу найпростіших. Вона включає в себе *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* і *P. malariae*.



Майже 800000 чоловік вмирають від малярії щорічно. Він передається самкою комара *Anopheles*. Як тільки найпростіші потрапляють в організм людини, вони дозрівають у печінці та клітинах крові. Симптоми включають пропасницю з ознобом і надмірне потовиділення. *P. falciparum*, не виявлена на ранній стадії, може призвести до церебральної малярії і смерті.

Збудник. Відрізняють три різновидності малярії: 1) триденну, 2) чотириденну і 3) тропічну. Всі три види плазмодіїв мають подвійний цикл розвитку: безстатевий, який відбувається в еритроцитах людини (шизогонія), і статевий, що відбувається в тілі комара (спорогонія).

Епідеміологія. Поширення малярії можливе тільки при наявності таких умов: 1) людей—носіїв малярійних плазмодіїв, 2) передавачів інфекції — комарів з роду анофелес і 3) певної зовнішньої температури (не нижче 15—18°).. Якщо немає хоча б одного з цих факторів, поширення малярії припиняється. Комар — переносник інфекції (анофелес) на відміну від інших видів має темні плямочки на крилах; на плоскій поверхні сидить під кутом, головою вниз.. Розмножується він у болотах, калюжах і стоячих водоймах. Кров ссуть і переносять малярію тільки самиці, вони нападають на людину переважно після заходу сонця і менше вдень. З настанням холодів самиці ховаються на зимівлю, а весною (квітень) вилітають знову. На Україні найчастіше зустрічається триденна малярія, максимум

захворювань припадає на весну і початок літа.

Симптоми і перебіг. Триденна малярія (*Malaria tertiana*). Інкубаційний період від 10 днів до кількох місяців. Заражені влітку або восени перший виразний приступ нерідко дають тільки весною (первинно прихована малярія). Типовий приступ починається трясучим ознобом, головним болем і ломотою в тілі; температура підвищується до 40° і більше, іноді блювання або пронос, часто герпес на губах. Селезінка збільшена, щільна, печінка також збільшується. Приступ триває 6 — 8 — 12 годин, рідко довше, температура падає критично з потом. Через 48 годин приступ повторюється знову і т. д. Надалі правильність чергування приступів втрачається: гарячка стає неправильною, а іноді й зовсім на час припиняється (вторинно прихована малярія). Тривалий безгарячковий період у цих випадках переривається типовими приступами — затяжна рецидивна малярія. Появі рецидивів сприяють гарячкові захворювання, охолодження тіла, перегрівання на сонці, впорскування адреналіну та Ін. При затяжній малярії розвивається анемія, стійкі зміни у внутрішніх органах (селезінці, печінці, нирка, кахексія).

Чотириденна малярія (*Malaria quartana*) на Україні зустрічаються рідко. Приступи при ній виникають через 72 години. Вони тривалі, стійкі і важко піддаються вилікуванню.

Тропічна малярія (*Malaria tropica*). Приступи настають через 48 годин і тривають до 40 годин, безгарячковий період короткий (8 годин). Озноб і піт виявлені мало, часто нервові симптоми: головні болі, маячення і втрата притомності, що доходить іноді до коми. Перебігом тропічна малярія нерідко нагадує черевний тиф або сепсис. Важко піддається вилікуванню.

Діагноз у типових випадках легкий. При прихованих і затяжних формах малярію сплутують з сепсисом, туберкульозом, черевним тифом, бруцельозом. З'ясувати діагноз допомагають анамнез і лабораторне дослідження: на скло наносять краплю крові, добуту під час приступу уколком з пальця, розмазують її до діаметра в 1 см, висушують і забарвлюють за Романовським-Гімз. В еритроцитах плазмодії забарвлюються в голубуватий колір.

Лікування Специфічні засоби: хінін, акрихін і плазмоцид.

Амебіаз — це група захворювань, викликаних найпростішими *Entamoeba histolytica*. Вони включає в себе загальну амебну дизентерію та амебний абсцес печінки, легенів, селезінки і шкіри. Амебну дизентерію характеризує рідкий стілець з кров'ю і слизом, судомний біль у животі. Діагноз на амебіаз ставлять на підставі огляду стільця під мікроскопом. Якщо її не лікувати, хвороба може викликати виразки в товстому кишечнику і абсцеси в інших частинах тіла. **Амебіаз** характеризується фекально-оральним механізмом передачі, це убіквітарна інфекція, близько 10% світової людської популяції інфіковано *Entamoeba histolytica*.

Щорічна захворюваність на кишковий амебіаз становить близько 50 млн випадків, летальність досягає 100 000 випадків. В Україні випадки амебіазу зустрічаються набагато рідше, в основному спорадично, хоча завезення цієї інфекції та створення ендемічного осередку можливе у деяких районах.

Етіологія. Життєвий цикл амеби включає 2 стадії: вегетативну (трофозоїт) і цисти, що можуть переходити одна в іншу в залежності від умов в організмі хазяїна. Вегетативні форми амеб нестійкі в зовнішньому середовищі, у фекаліях хворого гинуть через 30 хв. Вегетативна стадія циклу розвитку паразита включає 3 форми:

Тканинна (велика вегетативна) форма амеби має високу рухливість і інвазійну спроможність. Здатна до фагоцитозу еритроцитів (еритрофаг). Дана форма паразита виявляється тільки при кишковому амебіазі в свіжовиділених фекаліях хворої людини, а також, в уражених органах, .

Просвітна форма амеби має незначну рухливість. Ця форма амеби живе у просвіті товстої кишки і виявляється у випорожненнях реконвалесцентів гострого кишкового амебіазу, при хронічному перебігу та у носіїв амеб після провокації проносом.

Передцистна форма малорухлива, виявляється у випорожненнях реконвалесцентів гострого кишкового амебіазу. Цисти виявляють в калі реконвалесцентів гострого кишкового амебіазу, у хворих на хронічний амебіаз, що рецидивує, у стадії ремісії та у носіїв амев. Цисти відрізняються високою стійкістю до факторів зовнішнього середовища. У вологих фекаліях при температурі 17-20° С і у воді, вільній від бактеріальної сапрофітної флори, вони не втрачають життєздатність близько 1 міс, у зволоженому ґрунті — до 8 днів. В охолоджених харчових продуктах, на поверхні фруктів, овочів, предметів домашнього вжитку цисти можуть зберігатися протягом декількох днів. Низьку температуру вони переносять протягом декількох місяців. На цисти згубно впливає висока температура. Висушування губить цисти майже миттєво. Звичайні дезінфікуючі речовини, в залежності від хімічного складу і концентрації, по різному діють на цисти: 5% розчин формаліну і 1% розчин хлораміну не чинять на них помітного негативного впливу; у розчині сулеми (1:1000) цисти гинуть протягом 4 год.

Епідеміологія. Джерелом інфекції при амебіазі є людина, що виділяє цисти *E. histolytica*. Хворі з гострими проявами кишкового амебіазу, виділяють з випорожненнями переважно нестійкі в зовнішньому середовищі вегетативні форми паразита, суттєвої епідеміологічної небезпеки не становлять. Епідеміологічно найбільш небезпечні носії амев, а також реконвалесценти гострого кишкового амебіазу і хворі на хронічну форму амебіазу. Виділення цист інвазованими особами може продовжуватися багато років, а за добу один носій амев спроможний виділити з фекаліями 300 млн цист і більше. Виділення цист відбувається нерівномірно. У зовнішньому середовищі цисти гинуть через певний час після виділення. Механізм інфікування — фекально-оральний. Основними факторами передачі цист гістолітичної амев є харчові продукти, рідше — вода, контамінована цистами. Механічним переносником є мухи. Останнім часом описані зараження внаслідок орально-анальних статевих контактів.

Хворіють на амебіаз усі вікові групи населення обох статей, але переважно чоловіки віком 20-58 років. Особливо сприйнятливі до амебіазу жінки в III триместрі вагітності і післяпологовому періоді, що пов'язано, мабуть, з особливостями клітинної імунної відповіді у вагітних, а також особи, що одержували імуносупресивну терапію. У цілому, набутий в результаті хвороби імунітет при амебіазі є нестійким і нестерильним, не захищає пацієнтів ані від рецидивів, ані від реінфекції.

Назва *E. histolytica* напряму пов'язана з літичною дією дизентерійної амев на тканини. Її прикріплення (адгезія) до слизової кишечника відбувається за рахунок галактозо-інгібуючого-адгезивного лектину — пептиду, який утворює пори в слизовій і, таким чином, пошкоджує кишечник. Крім цього фактору у *E. histolytica* знайдено безліч гемолізінів, які здатні знешкоджувати еритроцити, лейкоцити і протеази, виявлено гіалуронідазу, що сприяє проникненню амев у тканини. При потрапленні *E. histolytica* в підслизовий шар відбувається інтенсивне розмноження паразитів, утворюються первинні вогнища у вигляді мікроабсцесів, які розкриваються в порожнину кишечника.



Таким чином, спочатку виникає виразка невеликих розмірів. При цьому амев інтенсивно розмножуються, поширюючись по периферії виразки і проникають всередину,

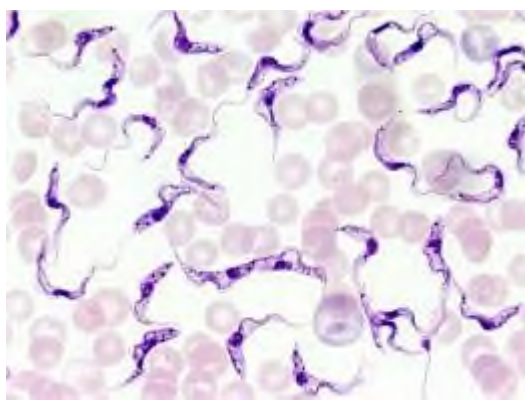
досягаючи м'язового шару стінки кишки. Тривалий, з хронічним перебігом, кишковий амебіаз може стати причиною утворення кіст, поліпів і амебом..

Ускладнення. При кишковому амебії можуть розвиватися численні ускладнення, серед яких найбільш поширені: перфорація стінки кишки з наступним перитонітом; гангрена слизової оболонки; кишкова кровотеча; гострий специфічний апендицит; випадіння прямої кишки.

Специфічна діагностика Для підтвердження амебіазу використовують біопсію слизової оболонки, паразитоскопію і серологічні методи. Вирішальне значення має знаходження тканинної (великої вегетативної) форми амеби в фекаліях, матеріалі з дна виразки, харкотинні тощо. Виявлення просвітних форм і цист амеб у випорожненнях не дає права діагностувати амебіаз як хворобу, тому що вони виявляються також і в носіїв. Досліджують свіжі порції випорожнень методом мікроскопії нативних мазків або після їх забарвлення розчином Люголя чи залізним гематоксилином по Гейденгайну. Свіжовиділені випорожнення досліджують не пізніше ніж 10-15 хв. після дефекації, іноді потрібно багаторазове паразитологічне обстеження фекалій. Серологічні тести на протиамебні антитіла дають позитивні результати приблизно в 75% випадків інвазивного амебіазу з локалізацією в товстій кишці. До найпоширеніших методів серологічної діагностики відносять ІФА, реакцію непрямой гемаглютинації (РНГА), РНІФ.

Лікування. ВООЗ рекомендує на даному етапі багато препаратів для лікування амебіазу у дорослих, однак певна частка їх в Україні на 1 січня 2015 року не зареєстрована (йодохінол, паромоміцин, ділоксанид тощо). Тому для специфічної терапії амебіазу в нашій країні використовують: метронідазол, тинідазол, орнідазол, ніфурател, хлорохін застосовують для лікування хворих з амебними абсцесами печінки,

Сонна хвороба (або африканський трипаносомоз). Це захворювання, що викликається найпростішими *Trypanosoma brucei*, переноситься мухою цеце.



Сонна хвороба — природно-вогнищеве захворювання, поширене тільки в Африці. Щороку сонну хворобу діагностують у 50 — 70 тис. осіб. Смертність від сонної хвороби настільки висока, що, наприклад, в деяких районах Уганди, як вказує Н. Н. Плотніков, чисельність населення за 6 років знизилася з 300 тис. до 100 тис. осіб. Тільки в Гвінеї щорічно відзначали 1500—2000 смертей. На боротьбу з цією страшною недугою 36 країн Африканського континенту, де вона лютує, щорічно витрачають близько 350 млн доларів, проте до теперішнього часу все ще не створено вакцини проти сонної хвороби. Розрізняють два види африканської сонної хвороби — гамбійська сонна хвороба (її спричинює підвид *Trypanosoma brucei gambiense*) та родезійська сонна хвороба (її зумовлює підвид *Trypanosoma brucei rhodesiense*). Обидва види передаються трансмісивно через укуси інфікованої мухи цеце (*Glossina morsitans*) та є поширеними переважно у сільській місцевості. Мухи переносять хворобу від тварин і людей, що є носіями трипаносом. Останні швидко розмножуються у крові людини проникаючи туди зі слиною комахи. Збудники сонної хвороби — плоскі паразити довгасто-веретеноподібної форми. Вони дуже маленькі

(12-20 мкм в довжину), але рухливі, легко переміщуються з місця на місце за допомогою напівпрозорої мембрани, що йде уздовж тіла. *Trypanosoma brucei gambiense* нині є причиною більш, ніж 98 % усіх зареєстрованих випадків сонної хвороби.

Клінічні прояви. Спочатку, на першій стадії хвороби, спостерігають високу температуру тіла, головний біль, біль у суглобах, свербіж. Це починається після того, як від моменту укусу пройшло 7-21 день, що становить інкубаційний період. Друга стадія починається через декілька тижнів або місяців, і її симптомами є порушення свідомості та орієнтації, погана координація, відсутність чутливості та порушення сну. Діагноз підтверджують тоді, коли паразита знаходять у мазку крові або у вмісті лімфовузла. Часто для того, щоб встановити різницю між хворобою першої та другої стадії, потрібна люмбальна пункція.

Симптоми сонної хвороби:

- наявність первинного афекту — вхідного шанкра, болючого елемента в місці інюкуляції трипаносом. Він з'являється через 5-7 днів після того, як збудник сонної хвороби потрапляє в організм. Шанкр може з'явитися на будь-якій ділянці тіла, там де був укус. Зрештою майже завжди спонтанно гоїться;
- ремітуюча гарячка;
- безсоння;
- сильний головний біль;
- проблеми з концентрацією уваги;
- тахікардія;
- збільшення вузлів в задньому шийному трикутнику;
- болючі підшкірні набряки;
- в європейців додатково до основних симптомів з'являється кільцеподібна еритема.

Якщо хворобу не лікувати на ранніх стадіях, вона може вражати багато органів, включаючи серце і нирки, гематоенцефалічний бар'єр, із-за чого виникають сплутаність свідомості, сомнамбулізм і безсоння. Для її лікування застосовують пентамідина ізотіонат, який вводять внутрішньовенно з розрахунку 0,003 г на 1 кг маси тіла, також використовують сурамін і органічні сполуки миш'яку.

Трихомоніаз. Трихомоніаз (трихомоноз) – хвороба, якою можна заразитися статевим шляхом. Збудник захворювання – це паразит *Trichomonas vaginalis*, що вражає сечостатеві шляхи.



Виділяють 3 види трихомонад: піхвова, оральна, кишкова. Появі трихомонозу сприяє піхвова трихомонада. Збудник абсолютно не стійкий до агресивного впливу зовнішнього середовища. Тому, коли паразит туди потрапляє, то відбувається його швидка загибель. Провідний шлях передачі – це незахищений статевий акт. У жінок вражається піхва, у

чоловіків – сечовипускальний канал і передміхурова залоза. Симптоми включають в себе вагініт та уретрит у жінок і чоловіків. Трихомоніаз часто протікає безсимптомно.

Трихомонада виживає у вологому середовищі по кілька годин. Тому при цьому захворюванні допускається побутове зараження (наприклад, через вологі рушники та мочалки). Варто відзначити, що трихомоніаз – єдине венеричне захворювання, при якому допускається побутове зараження. Більшість випадків трихомоніазу, які пов'язують з нестатевим шляхом зараження, є пізно виявленою хронічною інфекцією.

Інкубаційний період трихомоніазу становить 1-4 тижні.

Симптоми трихомоніазу у жінок:

- виділення з піхви (звичайно жовті, іноді з неприємним запахом)
- свербіж і почервоніння зовнішніх статевих органів
- біль при сечовипусканні
- біль при статевих контактах



У чоловіків захворювання в більшості випадків протікає безсимптомно. Іноді при трихомоніазі у чоловіків виникають такі симптоми:

- виділення з сечівника
- біль і печіння при сечовипусканні
- при ураженні передміхурової залози – симптоми простатиту

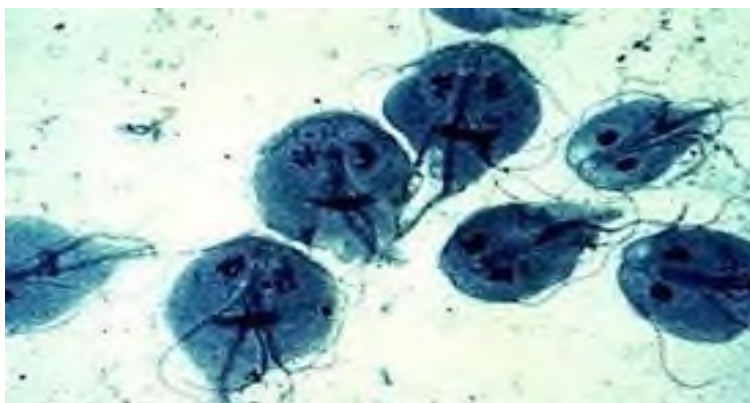
Ускладнення трихомоніазу. Раніше небезпеку цього захворювання недооцінювали. В даний час доведено, що трихомоніаз збільшує ризик передчасних пологів і передчасного вилиття навколоплідних вод. У чоловіків він може призводити до раку простати.

Діагностика трихомоніазу. У діагностиці трихомоніазу застосовують загальний мазок. У жінок досліджують виділення з піхви, у чоловіків – виділення з сечівника і секрет передміхурової залози. Результат загального мазка підтверджують більш точними методами дослідження – ППФ, ПЛР або бакпосів.

Лікування трихомоніазу включає метронідазол. Комерційні назви метронідазолу: Акваметро, Кліон, Медазол, Метронідазол Нікомед, Метронідазол-Рос, Метронідазол-Русфарм, Метронідазол-Тева, Тріхазол, Трихопол.

У ряді випадків призначають додаткове лікування (імунотерапія, масаж передміхурової залози, інстиляції уретри, фізіотерапія і т. д.).

Лямбліоз - це інвазії лямбліями, що протікають як у вигляді латентного паразитозу, так і в маніфестних формах, переважно у вигляді дисфункцій кишечника. Збудник - *Lambliа intestinalis* (*Giardia Lamblia*).



Існує у вигляді вегетативної і цистної форм. Вегетативна форма грушовидна,

розміри тіла: у довжину 10-25 мкм, в ширину - 8-12 мкм. На вентральній стороні розташовано поглиблення (присасувальний диск), що служить для прикріплення паразита до клітин кишкового епітелію. Ротового отвору у лямблій немає. У пофарбованих препаратах на світлому тлі диска чітко видно два симетрично розташованих овальних ядра (нагадуючи особу з двома великими очима). Мають чотири пари симетрично розташованих джгутиків. Вегетативні форми, що паразитують у тонкій кишці, спускаючись у товсту, утворюють цисти, які виділяються з калом у зовнішнє середовище. Незрілі цисти двоядерні, зрілі - **чотирьохядерні**. Оболонка цисти чітко виражена і здебільшого відстає від протоплазми, що є характерною відмінністю від цист інших кишкових найпростіших.

Джерелом інфекції є тільки людина, інвазіований лямбліями. Паразитує на гризунах (миші, щури) лямблії для людини не патогенні. Передача інфекції здійснюється фекально-оральним шляхом. Цисти лямблій виділяються з випорожненнями і можуть довго зберігатися у зовнішньому середовищі. Передача може здійснюватися і через харчові продукти, на яких цисти лямблій зберігають життєздатність від 6 годин до 2 діб. Можлива й передача від людини до людини. Цей шлях інфікування особливо широко поширений в дитячих дошкільних установах, де інвазування лямбліями значно вище, ніж серед дорослих. У чоловіків-гомосексуалістів лямбліоз може передаватися статевим шляхом.

Патогенез. Воротами інфекції є верхні відділи тонкої кишки. В даний час встановлено, що для розвитку лямбліозу досить потрапляння кількох (до 10) цист. В організмі хазяїна вони розмножуються у величезних кількостях (на 1 см² слизової оболонки кишки може перебувати до 1 млн лямблій і більше). Інвазовані лямбліями особи можуть виділяти з випорожненнями до 18 млрд цист протягом доби. Вегетативні форми можуть існувати тільки на поверхні слизової оболонки верхнього відділу тонкої кишки, механічно блокують слизову оболонку тонкої кишки, порушуючи пристінковий травлення, ушкоджують рухову активність тонкої кишки. Може спостерігатися посилене розмноження бактерій і дріжджових клітин. Це може призводити до порушення функцій жовчовивідних шляхів і підшлункової залози. Клінічні прояви лямбліозу багато в чому обумовлені погіршенням всмоктування, особливо жирів і вуглеводів. Знижується активність ферментів (лактази, ентеропептидази та ін), знижується абсорбція вітаміну В₁₂, порушується С-вітамінний обмін. Це вказує, що речовини, які продукують лямбліями, прямо або побічно ушкоджують структуру мікроворсинок тонкої кишки. Лямблії не можуть існувати в жовчовивідних шляхах (жовч їх вбиває). У зв'язку з цим лямблії не можуть бути причиною важких порушень печінки, холецистохолангіти (обумовлена ними рефлексорна дискінезія жовчовивідних шляхів сприяє лише нашаруванню вторинної бактеріальної інфекції), уражень нервової системи. Часто зустрічаються поєднання носійства лямблії з якими-небудь захворюваннями. При поєднанні з шигел лямблій обумовлюють більш тривалі розлади кишечника, порушення імуногенезу і сприяють переходу дизентерії в хронічні форми. Імунітет після перенесеного лямбліозу не дуже напружений і не тривалий.

Симптоми: Захворювання починається гостро, у хворого з'являється рідкий водянистий стілець без домішок слизу і крові. Стілець неприємного запаху, на поверхні спливають домішки жиру. З'являються болі в епігастральній ділянці. Утворюється велика кількість газу, що роздувають кишечник, відзначається відрижка газом з сірководневим запахом. Відзначаються зниження апетиту, нудота, може бути блювота, у деяких хворих незначно підвищується температура тіла. Гостра стадія лямбліозу триває 5-7 днів. В окремих хворих лямбліоз може затягтися на місяці й супроводжуватися порушенням харчування, зниженням маси тіла. У більшій частині прояви хвороби зникають мимовільно протягом 1-4 тижнів. Хронічні форми лямбліозу спостерігаються переважно у дітей дошкільного віку.

Ускладнень лямбліоз не дає.

Діагностика: В даний час розроблені методи виявлення лямбліозних антигенів у випорожненнях (РЕМА, реакція непрямой імунофлюоресценції), однак вони не ввійшли в широку практику. Про можливість лямбліозу необхідно думати при появі діареї, особливо у дітей, що протікає без виражених проявів загальної інтоксикації при відсутності в стільці

слизу і крові.

Токсоплазмоз (*Toxoplasma gondii*.) - паразитарне захворювання, що характеризується переважно латентним чи хронічним перебігом, ураженням нервової системи, органів ретикулоендотеліальної системи, м'язів, міокарда і очей.

Епідеміологія: зооноз з природною осередковим; проміжні господарі - людина і ряд тварин, остаточно - домашні кішки і деякі дикі представники сімейства кошачих (рись, пума, ягуар). Зараження настає при вживанні в їжу сирого м'яса (заковтування цист, що містяться в м'ясі або ооцист, якими вона може бути обсіменене), через інфіковану кров і трансплацентарно.

Патогенез: ворота інфекції - частіше органи травлення. Впровадження збудника відбувається в нижніх відділах тонкої кишки, потім з потоком лімфи токсоплазми досягають регіонарних (мезентеріальних) лімфовузлів, де розвиваються запальні зміни з формуванням інфекційних гранульом. Потім токсоплазми потрапляють в кров, розносяться по всьому організму і фіксуються в різних органах і тканинах (печінка, селезінка, лімфатичні вузли, нервова система, очі, міокард, скелетні м'язи). У цих органах утворюються скупчення паразитів у вигляді цист, які можуть зберігатися в організмі десятки років і навіть довічно. У місцях фіксації виникають запальні вогнища, а в деяких органах (нервова система, скелетні м'язи) - вогнища некрозу, в яких потім відкладаються солі кальцію і утворюються кальцинати. В результаті життєдіяльності паразита і виділення антигенів і алергенів настає алергічна перебудова організму (по типу реакцій гіперчутливості уповільненого типу) і виробляються антитіла. інкубаційний період близько 2 тижнів. Первинно-латентний токсоплазмоз - первинне інфікування призводить до вироблення специфічних антитіл і формуванню нестерильного імунітету без будь-яких клінічних проявів захворювання. Гострий токсоплазмоз - починається бурхливо, найчастіше протікає по типу менінгіту (менінгоенцефаліту, енцефаліту), з розвитком невритів зорових нервів, парезів, геміплегій, через 4-5 тижнів - міокардиту. Гострий токсоплазмоз протікає важко і може закінчуватися летально.

Хворі скаржаться на загальну слабкість, головний біль, адинамію, погіршення апетиту, порушення сну, іноді схуднення. Часто спостерігаються психоемоційна нестійкість, зниження пам'яті, розумової працездатності. Хворих часто турбують серцебиття, тупі болі в області серця, порушення ритму серцевих скорочень. Вроджений токсоплазмоз проявляється картиною нейроінфекції, супроводжується полілімфаденозом (особливо мезаденозом), гепатолієнальним синдромом, артралгіями, міалгія, ураженням зорових нервів, розвитком міокардиту;

Лабораторна діагностика: виявлення IgG та IgM в серологічних реакціях, динамічне спостереження за їх титром, постановка внутрішньошкірної проби з токсоплазміном, ПЛР.

Бактеріоскопічне дослідження

мазків методом фазового контрасту за Романовським-Гімза (трипаносоми, лейшманії, балантидії), залізним гематоксином, розчином Люголя (амеби).

Бактеріологічне дослідження.

- посів на середовище NNN (лейшманії, трипаносоми), спеціальні середовища для культивування трихомонад, амеб, балантидій, лямблій.

Серологічне дослідження. (з парними сироватками хворого)

РЗК, РІФ – при лейшманіозі;

РНГА, реакція аглютинації латексу, подвійна дифузія в гелі, зустрічний електрофорез – при амебіозі.

Біологічна проба.

зараження морських свинок (трипаносомоз), кошенят (амебіаз).

Лікування.

1) етіотропна терапія: хлорідін (піриметамін) + (сульфадимезин) + тетрациклін.

2) обов'язково призначення ГКС (преднізолон).

3) В якості вакцини використовують токсоплазмін, в основі застосування якого покладена його здатність стимулювати тривалий специфічна імунна відповідь по кле-точному типу.

Практичні завдання.

1. Записати латинські назви патогенних найпростіших:

2. Замалювати патогенні протозої.

Підпис викладача _____

МЕДИЧНА ВІРУСОЛОГІЯ

Дата

Заняття №

Тема. Морфологія та фізіологія вірусів. Методи їх культивування та індикація.

Віруси бактерій - фаги.

Мета. Засвоїти морфологію, особливості культивування та методи виявлення вірусів в досліджуваному матеріалі. Засвоїти основні напрямки використання фагів в практичній і теоретичній медицині, роль генної інженерії в створенні лікарських засобів.

Питання, що підлягають вивченню

1. Класифікація вірусів. Принципи, покладені в основу класифікації вірусів.
2. Морфологія та ультраструктура вірусів.
3. Типи взаємодії вірусу із клітинами хазяїна.
4. Біологічні особливості вірусів. Фази взаємодії вірусу з чутливою клітиною.
5. Методи культивування вірусів.
6. Методи індикації вірусів.
7. Морфологія і класифікація фагів, типи взаємодії фагу з чутливою клітиною.
8. Отримання вірулентних бактеріофагів, практичне використання.
9. Помірні фаги. Визначення понять “лізогенія” і “фагова конверсія”. Використання помірних фагів в генній інженерії.

Медична вірусологія вивчає віруси-паразити людини, їх роль в етіології та патогенезі інфекційних та пухлинних хвороб, розробляє спеціальні методи діагностики, способи етіотропної терапії та специфічної профілактики.

Віруси – це самостійна група неклітинних організмів, які проявляють ознаки живих істот лише знаходячись в чутливій клітині-хазяїні. **Форми існування вірусів:** Позаклітинна (віріон) та внутрішньоклітинна (вірус або провірус). Віруси поділяють на канонічні та неканонічні.

Неканонічні віруси.

Вірусоїди – дефектні віруси, геном яких не містить повної інформації про структуру вірусів, мають оболонку.

Віроїди – представлені кільцевою РНК, не мають оболонки, фітопатогенні.

Транспозони – дрібні, не здатні до самовідтворення позахромосомні фрагменти ДНК, які обумовлюють ряд біологічних ознак (резистентність до хімічних речовин, токсигенність і інші). Транспозони здатні відтворюватись тільки в інтегрованому стані разом з хромосомою бактерій.

IS-елементи- короткі ланцюги ДНК, які самостійно не реплікуються і не кодуєть фенотипових ознак. Вони здатні пересуватись з однієї ділянки ДНК до іншої і регулювати активність генів хромосоми (“включати” або “виключати” транскрипцію) і індукувати (стимулювати) мутації.

Плазміди можуть існувати у вигляді відокремленої замкнутої молекули ДНК, а також у стані вбудованого у хромосому бактерії (інтегрованого) фрагменту ДНК. В залежності від місця розташування усі плазміди поділяють на: автономні, не пов’язані з хромосомою і здатні самостійно реплікуватись, та інтегровані, вбудовані у хромосому і реплікуються разом з хромосомою.

За біологічними властивостями, які вони обумовлюють, розрізняють:

Р-плазміди (обумовлюють стійкість мікроорганізму до дії лікарського препарату, наприклад, до антибіотиків, сульфаніламідів, а також до солей важких металів);

F-плазміди (обумовлюють прискорений поділ бактерій і обмін генетичною

інформацією між окремими клітинами, кодують синтез спеціальних F-пілей, необхідних для кон'югації);

Sol-плазмід (плазмід бактеріоциногенності, які обумовлюють здатність бактерії синтезувати біологічно активні сполуки, що викликають загибель бактерій того ж або близького виду і забезпечують явище мікробного антагонізму);

Tox-плазмід (плазмід патогенності, які надають бактерії здатності продукувати специфічні токсини, наприклад, ботулінічний токсин);

Ent-плазмід (плазмід патогенності, які надають бактерії здатності продукувати ентеротоксини);

Hly-плазмід (плазмід патогенності, які обумовлюють синтез мембранотропних ферментів гемолізинів); плазмід біодеградації (кодують будову ферментів біодеградації природних і синтетичних речовин, які використовуються клітиною як джерело енергії).

В залежності від шляхів поширення від клітини до клітини усі плазмід поділяються на: трансмісивні (R- і F-плазмід), які передаються шляхом кон'югації, та нетрансмісивні, що знаходяться у великій кількості в клітині (до 30), і це забезпечує їх довільний розподіл у дочірних клітинах.

Функції плазмід:

- регуляторна (регуляторні плазмід компенсують дефекти метаболізму бактерії шляхом вбудовування в ушкоджений геном);
- кодуєча (кодуєчі плазмід вносять в клітину нову генетичну інформацію, яка кодує нові властивості бактерії).
- Плазмід, транспозони і вставочні послідовності разом із бактеріальною хромосою складають геном бактерії.

Реалізація генотипу у мікроорганізмів тісно пов'язана з впливами зовнішнього середовища. Фенотип бактерії – це зовнішні прояви результату взаємодії бактерії із оточуючим середовищем, які знаходяться під контролем генотипу .

Пріони (від англ. *proteinaceous infectious particles* — білкові інфекційні частинки) — особливий клас інфекційних агентів, таких, що **не містять нуклеїнових кислот**), викликають важкі захворювання центральної нервової системи у людей і ряду вищих тварин (так звані «повільні інфекції»). Пріонний білок, що володіє аномальною тривимірною структурою, здатний прямо каталізувати структурне перетворення гомологічного йому нормального клітинного білка в собі подібний (пріонний), приєднуючись до білка-мішені і змінюючи його конформацію.

Історія. У другій половині ХХ століття лікарі зіткнулися із незвичайним захворюванням людини - поступово прогресуючим руйнуванням головного мозку, що відбувається у результаті загибелі нервових клітин. Це захворювання отримало назву губчастої енцефалопатії. Схожі симптоми були відомі давно, але вони спостерігалися не в людини, а у тварин (скреїпі овець), і довгий час між ними не знаходили достатнього обґрунтованого зв'язку. Новий інтерес до їх вивчення виник у 1996 р., коли у Великобританії з'явилася нова форма захворювання, що позначається як «новий варіант хвороби Кройтцфельдта-Якоба (nvCJD)». Важливою подією було поширення « коров'ячого сказу» у Великобританії, епідемія якого була початково в 1992-1993 рр., а потім і в 2001 р., та охопила кілька європейських держав. Тим не менше м'ясо корів було експортовано у багато країн, в тому числі і на Україну. Захворювання пов'язують із використанням «пріонізованого» кісткового борошна в кормах і преміксах, які було виготовлено із туш полеглих або хворих тварин, які можливо, і не мали явних ознак захворювання.

Шляхи перенесення фактора, що спричиняє хворобу, механізми проникнення пріонів в організм і патогенез захворювання вивчені поки недостатньо. У 1997 р. американському лікареві Стенлі Прузінеру була присуджена Нобелівська премія з фізіології та медицини за вивчення пріонів. Людина може заразитися пріонами, що містяться в їжі, оскільки вони не руйнуються ферментами травного тракту. Безперешкодно проникаючи через стінку тонкого кишечника, вони в кінцевому результаті потрапляють в центральну нервову систему. Так

переноситься *новий варіант хвороби Крейтцфельдта-Якоба (nvCJD)*, якою люди заражаються після вживання в їжу яловичини, що містить нервову тканину із голів худоби, яка хвора бичачою губчастою енцефалопатією (BSE, коров'ячий сказ).

Пріони можуть проникати в тіло і парентеральним шляхом. Були описані випадки зараження при внутрішньом'язовому введенні препаратів, виготовлених із людських гіпофізів (головним чином гормон росту для лікування карликовості), а також зараження мозку інструментами при нейрохірургічних операціях, оскільки пріони стійкі до вживаних в даний час термічних та хімічних методів стерилізації. Ця форма *хвороби Крейтцфельдта-Якоба* позначається як **ятрогенна (ICJD)**.

Згідно із загальноприйнятими теоріями, при досі нез'ясованих умовах, в організмі людини може відбутися спонтанна трансформація «потенційно» пріонного протеїну в «активну пріонну частинку». Так виникає так звана *спорадична хвороба Крейтцфельдта-Якоба (sCJD)*, вперше описана в 1920 р. незалежно один від одного Гансом Герхардом Крейтцфельдом і Альфонсом Марією Якобом. Передбачається, що спонтанне виникнення цієї хвороби пов'язане із фактом, що в нормі в людському тілі постійно виникає невелика кількість пріонів, які ефективно ліквідуються клітинним апаратом Гольджі. Порушення цієї здатності «самоочищення» клітин може призвести до підвищення рівня пріонів вище допустимої межі норми і до їх подальшого неконтрольованого розповсюдження. Причиною виникнення *спорадичної хвороби Крейтцфельдта-Якоба* згідно з цією теорією є порушення функції апарату Гольджі в клітинах.

Особливу групу пріонних захворювань являють собою спадкові (вроджені) хвороби, викликані мутацією гена пріонного протеїну, який робить пріонний протеїн, що утворився, більш вразливим до спонтанної зміни просторової конфігурації та перетворення їх у пріони. До цієї групи спадкових захворювань відноситься і *спадкова форма хвороби Крейтцфельдта-Якоба (fCJD)*, яка спостерігається в ряді країн світу.

При пріонових патологіях найвища концентрація пріонів виявлена в нервовій тканині заражених людей. Значна кількість пріонів зустрічається в лімфатичній тканині. Наявність пріонів в біологічних рідинях, включаючи слину, поки що не була однозначно підтверджена. Якщо уявлення про постійне виникнення невеликої кількості пріонів правдиві, то можна припустити, що нові, більш чутливі методи діагностики відкриють цю кількість пріонів, що розкидані по різних тканинах. У даному випадку, однак, мова піде про «фізіологічні» рівні пріонів, які не являють собою ніякої загрози для людини.

Шляхи зараження. Дуже мало відомо про молекулярний характер пріонів, що викликають захворювання. Зараження може бути викликане приблизно 100 000 молекул, які в більшості випадків створюють великі скупчення. Значення агрегації окремих молекул в асоціації для вірулентності пріонів поки що не відома. Не можна виключити, що вірулентними є і окремі молекули пріонів. З деяких експериментів випливає, що для виникнення пріонів в тканині достатньо лише тимчасового контакту тканини з матеріалом, що містить пріони, і немає необхідності, щоб пріони були назавжди внесені в організм. Цей ризик є актуальним, наприклад, у зв'язку із використанням хірургічних інструментів, заражених пріонами. Процес трансформації «здорових» пріонних протеїнів у пріони може бути ініційований простим контактом здорових тканин із пріонами, зафіксованими на хірургічному інструменті.

Перебіг хвороби і розповсюдження пріонів по організму залежить від типу пріона. Пріони відрізняються складом амінокислот, характерних для даного виду. Це визначається видовим геном пріонового протеїну, а також так званими посттрансляційними модифікаціями або ступенем глікозилювання базового білкового ланцюжка. Посттрансляційна модифікація значно впливає на характеристики пріонів і саме їй приписують різницю між так званими пріоновими родами. У випадку *нового варіанту (nvCJD)* був поки що описаний лише один вид пріона, схожий із пріонами худоби, зараженої *бичачою губчастою енцефалопатією*. Тому перебіг захворювання у людини і тварин, заражених *новими варіантами*, практично однаковий. У інших видів живих істот, однак,

відомо багато пріонових родів. У овець було описано приблизно два десятки таких родів, які не вірулентні для людини. Перебіг овечого пріонового захворювання, залежно від роду пріонів відрізняється - від дуже швидкого, з практично раптовою загибеллю, до повільного, затяжного.

Нетипові випадки клінічного перебігу *нового варіанту* у худоби, зараженої бичачою губчастою енцефалопатією, які траплялися в Японії та Італії, наводять на думку про існування більшої кількості родів бичачих пріонів. Якщо б цей рід бичачих пріонів потрапив в організм людини, слід було б очікувати виникнення *нового варіанту* із симптомами і клінічним перебігом, відмінними від відомих випадків.

У пацієнтів, хворих на *хворобу Крейтцфельдта-Якоба*, пріони поширюються у нервовій системі, тканинах ока і лімфатичних тканинах, включаючи мигдалики, селезінку, а також у апендиксі. Найбільша кількість пріонів знаходиться в нервовій системі, а найменше - в лімфатичній тканині. Поки що не було зареєстровано жодного випадку перенесення *нового варіанту хвороби Крейтцфельдта-Якоба (nvCJD)* при медичному втручанні, що є, зрозуміло, гарною новиною. З іншого боку, фахівці попереджають про перебільшений оптимізм, перш за все в умовах Великобританії, так як інкубаційний період може бути досить тривалим (від 5-8 місяців до 10-35 років).

Пріони та медичні інструменти

Пріони дуже стійкі до звичайних методів дезінфекції. Іонізуюче, ультрафіолетове або мікрохвильове випромінювання на них не діє. Дезінфекційні засоби, що зазвичай використовуються в медичній практиці, діють на них лише в дуже обмеженій формі. Надійно їх ліквідовують дезінфікуючі реактиви - сильні окисники, що мають руйнівну дію на протеїни. Також великою проблемою є стійкість пріонів до високих температур. Навіть при автоклавованні при 134 ° C протягом 18 хвилин неможливо досягти повного руйнування пріонів, і пріони «виживають» у формі, здатній викликати зараження. Стійкість до високих температур ще більше зростає, якщо пріони засохнуть на поверхні металу або скла, або якщо зразки перед автоклавованням були піддані дії формальдегіду.

Для людства *новий варіант* пріонів є дуже серйозною проблемою, із цих причин вже використовуються одноразові хірургічні інструменти для тонзилектомії. У майбутньому напрошується альтернативне рішення: створення нових інструментів, із урахуванням підвищених вимог до очищення та знезараження. Одноразове використання інструментів згідно з принципами ВООЗ потрібно в разі стоматологічного обслуговування пацієнтів з діагностованим пріонним захворюванням або у випадку підозри на нього.

Набагато більш складним рішенням цієї проблеми є лікування пацієнтів групи ризику. До них відносяться пацієнти, які зазнали операцій, при яких була використана потенційно заражена тверда мозкова оболонка, або пацієнти з сімей із спадковою формою хвороби Крейтцфельдта-Якоба.

Найбільш відомі пріонні інфекції, пов'язані з ураженням головного мозку:

Хвороба Крейтцфельдта - Якоба (Creutzfeldt-Jakob disease);

Фатальне сімейне безсоння (Fatal Familial Insomnia);

хвороба Куру (Kuru), пов'язана з ритуальним канібалізмом у деяких країнах Океанії;

Синдром Герстманна - Штройслера - Шейнкера (Gerstmann-Strussler-Scheinker disease).

Потенційна небезпека для людини

Незважаючи на незначну кількість явних випадків пріонних захворювань у людей, багато фахівців вважають, що мається високий ступінь небезпеки «повільних» інфекцій для людини. За неперевіреними даними, джерелом поширення можуть бути стоматологічні процедури, пов'язані з попаданням пріонів в кров'яне русло. Під підозру потрапив також лецитин тваринного походження, що викликало скорочення застосування його в фармакологічній промисловості, і витіснення рослинним (в основному, соєвим) лецитином.

Канонічні віруси мають оболонку (капсид, суперкапсид), що містить в собі геном і розмножуються без допомоги інших вірусів. Поділяються на 6 родин ДНК-вих та 13 родин

РНК-вих вірусів.

Етапи репродуктивного циклу вірусів:

- 1) адсорбція;
- 2) пенетрація;
- 3) дезінтеграція (депротеїнізація);
- 4) диз'юнктивна репродукція;
- 5) морфогенез вібріонів;
- 6) вихід із клітини.

Типи взаємодії віруса з клітиною:

1) Продуктивний тип взаємодії закінчується утворенням вірусного потомства.
2) Abortивний тип не закінчується утворенням вірусних частинок, так як інфекційний процес переривається і не супроводжується формуванням інфекційного потомства.

3) Інтегративний тип (вірогенія) характерний для онкогенних вірусів. Нуклеїнова кислота таких вірусів здатна вмонтовуватись в клітинну хромосому, спричиняючи трансформацію клітин. Такий тип взаємодії називають вірогенією.

Сучасні методи лабораторної діагностики вірусних захворювань:

1. **Мікроскопічні методи:** цитоскопічний, люмінісцентна мікроскопія, електронна мікроскопія, імунна електронна мікроскопія.
2. **Культуральний метод (вірусологічний).**

Етапи культурального методу

- Забір матеріалу.
- Обробка матеріалу антибіотиком з метою звільнення від супутньої бактеріальної мікрофлори.
- Культивування вірусу. Індикація і титрування вірусу. Віруси культивують в чутливих живих системах, а саме:
 - 1) в організмі лабораторних тварин (білі миші, морські свинки, хом'яки);
 - 2) в курячих ембріонах 5-14 денного віку, які заражають декількома способами - в порожнину амніону або алантоїсу, на хоріоалантоїсну оболонку, у жовточний мішок. Алантоїсна і амніотична рідина по закінченню певних термінів інкубації використовується для індикації вірусів;
 - 3) в культурах клітин – популяція однотипових клітин організму тварини або людини, які вирощують в штучних умовах. По тривалості життя культури клітин поділяють на:
 - а) первинні – одержують шляхом трипсинізації шматочків тканин; *in vitro* можуть проходити до 10 поділів;
 - б) напівперещеплювані – диплоїдні клітини одного типу, які здатні перещеплювати до 100 поділів *in vitro* (культура фібробластів ембріона людини);
 - в) перещеплювані – однотипні пухлинні або нормальні клітини із зміненим каріотипом, спроможні до необмеженого росту *in vitro* (Hela, Her-2, Vero, Kb і т. д.). Для культивування культур клітин використовують спеціальні поживні середовища, які містять амінокислоти, солі, вуглеводи і мають рН=7,2-7,4, а також індикатор, який змінює колір при зсуві рН. Найбільш поширеними є середовища Ігла і 199 (включає 60 компонентів).

Індикація вірусів – виявлення вірусів у досліджуваному матеріалі без установлення їх приналежності до родини, роду, виду або сероваріанту. Індикація вірусів в організмі лабораторних тварин здійснюється на підставі появи певних ознак захворювання. Після загибелі тварини вірус виявляють у гомогенатах уражених тканин. Індикація у курячому ембріоні: в амніотичній і алантоїсній рідині індикацію здійснюють у реакції гемаглютинації (міксовіруси); на ураженій хоріоалантоїсній оболонці з'являються бляшки або віспини (герпесвіруси). Індикація у культурі клітин здійснюється за:

1) **цитопатичною дією віруса (ЦПД).** При мікроскопії препарату, виготовленого із культури клітин, інфікованих вірусом, виявляються клітини з вакуолізованою цитоплазмою,

зміненим ядром (меншим за формою, інтенсивністю забарвлення); клітини нерідко втрачають свою типову форму (загальні дистрофічні зміни). При репродукції деяких вірусів в інфікованих клітинах можна виявити включення (цитоплазматичні або ядерні), що також є ознакою ЦПД вірусу. Деякі віруси сприяють утворенню синцитіїв або симпластів у культурі клітин, що можна виявити при мікроскопії. Синцитії утворюються внаслідок злиття декількох клітин, одна з яких, або усі інфіковані вірусом. Симпласти – це багатоядерні клітини, які утворюються внаслідок порушення процесів поділу інфікованої вірусом клітини.

2) Утворенням бляшок. Бляшки – це осередки зруйнованих інфікованих вірусом клітин моношару, що знаходиться під агаровим покриттям.

3) Кольоровою пробою. Середовища Ігла і 199 містять індикатор, який при рН=7,2-7,4 має малиновий колір, а при зсуві рН в кислу сторону (виділення клітинами кислих продуктів метаболізму) змінюється колір на жовтогарячий. Вірусінфіковані клітини внаслідок пригнічення життєдіяльності або загибелі не виділяють кислі продукти, відповідно колір індикатора не змінюється. Таким чином, при інфікуванні вірусом культури клітин, колір індикатора в середовищі Ігла не змінюється.

4) Реакцією гемаглютинації (РГА). Виявлення вірусів за допомогою РГА ґрунтується на спроможності деяких вірусів, які містять гемаглютинін в оболонці, склеювати еритроцити тварин або людей. Для реакції використовують культуральну рідину, в якій містяться віріони, або, якщо вірус культивують у курячому ембріоні, алантоїсну чи амніотичну рідину. В присутності віріонів, які мають на своїй поверхні гемаглютиніни (віруси грипу, парагрипу, кору), відбувається склеювання еритроцитів і утворення пластівців червоного кольору.

5) Реакція гемадсорбції (РГадс). РГадс дозволяє виявити віруси, які містять гемаглютинін, при мікроскопії заражених клітинних культур до розвитку ЦПД. При додаванні до культури клітин завису еритроцитів на інфікованих вірусом клітинах спостерігається адсорбція еритроцитів. Це зумовлено тим, що при репродукції вірусу у чутливій клітині, поверхневі рецептори вірусу, в тому числі і гемаглютинін, вбудовуються у оболонку інфікованої клітини. Еритроцити будуть фіксуватись тільки на інфікованих вірусом клітинах.

Методи ідентифікації вірусів. Реакція нейтралізації (РН), реакція гальмування гемадсорбції (РГГадс), реакція гальмування гемаглютинації (РГГА), реакція непрямой гемаглютинації, реакція зв'язування комплементу (РЗК), імуноферментний аналіз (ІФА), радіоімунний аналіз (РІА), імуноелектронна мікроскопія (ІЕМ), реакція імунофлюоресценції (РІФ), зустрічний імуноелектрофорез, метод молекулярної гібридизації нуклеїнових кислот.

3. Серологічний метод (РЗК, РГГА, РПГА, ІФА, РІА, імуноелектрофорез).

4. Молекулярно-генетичний метод (реакція гібридизації ДНК або РНК; полімеразно ланцюгова реакція (ПЛР)).

Бактеріофаги – це віруси, що репродукуються в клітинах бактерій. Розрізняють: за **вірулентністю**: вірулентні (спричиняють лізис клітини); помірні (інтегрують ДНК в геном, співіснують з клітиною в формі профага).

За спектром дії: полівалентні (інфікують бактерії одного роду); моновалентні (інфікують бактерії одного виду); типоспецифічні (інфікують бактерії певного варіанту одного виду).

Використання фагів: моновалентні вірулентні фаги використовують для: лікування і профілактики інфекцій; видової ідентифікації бактерій в діагностиці інфекцій; фаготипування епідемічних штамів збудників. Помірні фаги використовують: в генній інженерії в якості векторів; для отримання лізогенних культур - індикаторів мутагенних факторів.

САМОСТІЙНА РОБОТА СТУДЕНТІВ

Завдання 1. Ознайомитись з колекцією фагів для діагностики, лікування і профілактики

бактеріальних інфекцій.

ФАГИ	Використання		
	Для лікування	Для профілактики	Для діагностики
Стафілококовий			
Протейний			
Псевдомонадний			
Дизентерійний			
Полівалентний			

Імунні реакції використовують для діагностичних та імунологічних досліджень у хворих та здорових людей. З цією метою використовують серологічні реакції, тобто методи вивчення антитіл та антигенів за допомогою реакцій антиген-антитіло, які визначають в сироватці крові та інших рідинах організму. Всі серологічні реакції використовуються з двоякою метою: 1) для виявлення антитіл у сироватці хворого з допомогою стандартних антигенів-діагностикумів - для серологічної діагностики інфекційної хвороби; 2) для визначення невідомих антигенів (бактерій, грибів, вірусів) за відомими стандартними сироватками-антитілами - для серологічної ідентифікації збудників.

В залежності від характеристики антигену, який приймає участь в серологічній реакції, розрізняють наступні види реакцій:

ВИДИ СЕРОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

Реакція	Антигени	Інші компоненти реакції
Аглотинації	Бактерії	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Непрямої (пасивної) гемаглотинації	Антигени збудників, адсорбовані на еритроцитах	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Преципітації	Гаптени, екстракти, лізати	Ізотонічний розчин хлориду натрію
Гемолізу	Еритроцити	Комплемент
Зв'язування комплекменту	Гаптени, лізати, екстракти	Комплемент, гемолітична система
Опсонізації	Бактерії	Фагоцити (нейтрофіли)
Нейтралізації	Токсини, віруси	

Використання серологічних реакцій

Мета постановки реакції	Необхідний відомий компонент реакції
Виявлення в сироватці крові пацієнта специфічних антитіл до антигенів збудника (<i>серодіагностика</i>)	Антигенний діагностикум (містить відомі антигени збудника)
Виявлення виду збудника за його антигенною структурою (<i>ідентифікація збудника</i>)	Діагностична сироватка (містить специфічні відомі антитіла до антигенів збудника)

Реакція аглютинації латекса (РАЛ) Для постановки РАЛ використовують сенсibilізовані частинки полістиролового латекса діаметром 0,5-1,2 мкм, які в присутності гомологічного імунологічного реагента (антигена або антитіла) склеюються. Ця реакція відбувається досить швидко – протягом 2-7 хв, що дозволяє її застосовувати як експрес-

метод виявлення антигенів і антитіл. Навантажені антитілами часточки латексу широко використовуються для виявлення антигенів вірусів і бактерій.

Навантажуючи латекс антигенами, можна визначати наявність антитіл у сироватці хворого. Таку модифікацію РАЛ використовують для виявлення протигрипозних, протикраснушних, протикорових антитіл тощо.

Реакція коагутинації (КОА). Для постановки КОА використовують золотисті стафілококи (штам Cowan 1). У клітинній стінці цих мікроорганізмів міститься білок А, який має значну спорідненість до Fc фрагмента IgG людини і кролика. Тому молекули IgG після адсорбції на стафілококах, що мають білок А, орієнтовані в оточуюче середовище своїми вільними Fab фрагментами, в яких знаходиться активний центр антитіла.

Реакцію ставлять на скляних пластинках, змішуючи рівні об'єми (1-2 краплі) досліджуваного матеріала (кров, сеча, слина, фільтрати фекалій та інш.) і стафілококового діагностичного суміш ретельно перемішують і через 2-5 хв на темному фоні враховують результати. На темному фоні повинна чітко буде проглядатись дрібнозерниста аглютинація стафілококів.

Реакція преципітації відрізняється від аглютинації за характером антигенів: в реакції аглютинації вони корпускулярні, навіть цілі клітини, а в реакції преципітації – молекулярні, в розчинному стані. Антигенами можуть бути екстракти мікроорганізмів, тканин, органів, хімічні речовини.

Феномен преципітації полягає в тому, що **антитіла (преципітини)**, з'єднуючись із розчинними **антигенами (преципітиногенами)**, зумовлюють **утворення осаду (преципітату)** або помутніння розчину. За **титр реакції** приймають найбільше розведення **антигена**, яке дає позитивний результат.

Феномен преципітації широко використовується в мікробіологічній практиці. В судово-медичній експертизі його застосовують для визначення видової належності крові. За допомогою специфічних преципітуючих сироваток проти білка людини, різних тварин і птахів можна встановити, якому виду належить виявлена кров. Таким же чином визначають можливу фальсифікацію продуктів (м'ясо, мед). Ця реакція застосовується для діагностики епідемічного цереброспінального менінгіту, чуми, дизентерії, визначення інфікованості збудником сибірки продуктів і матеріалів тваринного походження (шкіра, хутро, щетина). Реакцію Ухтерлоні використовують для визначення антигенного складу органів і тканин, як нормальних, так і пухлинних, кількості антигенів у складних системах. Вона має важливе значення в діагностиці дифтерії, віспи та інших захворювань.

Імуноелектрофорез є поєднанням двох методів – електрофорезу в гелі і наступної після нього подвійної імунодифузії.

Для проведення реакції імуноелектрофорезу використовують скляні пластинки, предметні скельця, на які наносять тонкий шар агару або агарози. Спочатку антигени розміщують в центрі пластинки і розділяють їх в електричному полі. Потім у канавку, зроблену в агарі паралельно до лінії розділу антигенів, вносять специфічну сироватку. Дифундуючи назустріч один одному, антигени і антитіла у місці контакту утворюють дуги преципітації.

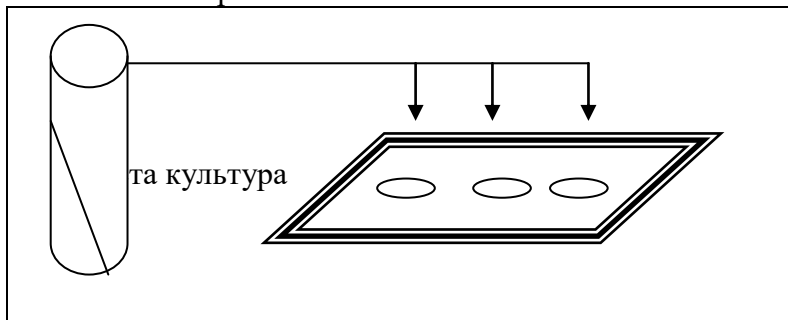
Для реакції лізису **необхідні антиген, антитіло й комплемент**. Антигеном можуть бути мікроорганізми, еритроцити або інші клітини. Як антитіло (лізин) використовують специфічну сироватку або сироватку хворого. Залежно від того, проти яких клітин спрямована дія лізинів, вони мають свої назви: проти бактерій – бактеріолізину, спірохет – спірохетолізину, еритроцитів – гемолізину, проти інших клітин – цитолізину. Комплемент при утворенні комплексу клітина (антиген) – антитіло, зв'язується з ним, активується за класичним шляхом і викликає розчинення клітини. **Без комплементу лізис клітини неможливий**. Розрізняють декілька реакцій лізису: Бактеріолізу, гемолізу, цитолізу.

Реакція зв'язування комплементу (РЗК). Характерною відмінністю РЗК від реакції аглютинації й преципітації є участь в ній, крім антигена й антитіла, інгредієнтів

реакції гемолізу, яка виступає у вигляді індикаторної системи. Взаємодія антигена з антитілом не завжди зумовлює візуальні зміни, які дозволяють визначити результат реакції. Проте відомо, що при утворенні комплексу антиген - антитіло до нього завжди приєднується комплемент. Якщо антиген і антитіло не відповідають один одному, то комплемент не зв'язується, залишається вільним у системі. При додаванні комплексу еритроцити барана – гемолізину вільний комплемент, зв'язуючись з ним, викликає гемоліз еритроцитів. Цей принцип і покладено в основу РЗК. При відповідності антигена антитілу з ним зв'язується комплемент. Щоб переконатись в цьому, додають еритроцити барана й гемолітичну сироватку. При відсутності гемолізу роблять висновок, що реакція позитивна, при наявності гемолізу – реакція негативна.

Постановка орієнтовної реакції аглютинації на склі.

На поверхню знежиреного предметного скла з допомогою піпетки на деякій відстані одна від одної наносять по краплі діагностичних сироваток (ОК-колі, комплексна сальмонельозна, полівалентна шигельозна) у розведенні 1:5, і вносять петлею суспензію живої досліджуваної культури в кожену краплю. Для контролю змішати досліджувану культуру з краплею фізіологічного розчину. Необхідно пам'ятати, що перед взяттям культури із скошеного агару і після внесення її у сироватку необхідно кожний раз пропалити петлю. Перемішати вміст крапель обережним похитуванням скла до появи аглютинації з тією чи іншою полівалентною сироваткою.



Постановка реакції аглютинації з метою серологічної діагностики.

Сироватку хворого попередньо розведену 1:50 послідовно кратно двом розводять від 1:100 до 1:1600 в аглютинаційних пробірках. Додають по три краплі бруцельозного діагностикому. Дві останні пробірки - контрольні (табл. 1). Штатив з пробірками поміщають в термостат при температурі 37 °С на 18-20 год. Облік результатів реакції проводиться за інтенсивністю аглютинації в різних розведеннях сироватки.

Гемаглютинація - це феномен склеювання еритроцитів під впливом вірусів. Деякі віруси мають на своїй оболонці рецептори, комплементарні рецепторам поверхні еритроцитів певних тварин, і при додаванні до суспензії вірусів еритроцитів, останні склеюються. Проте ця реакція не імунологічна, тому що в ній не бере участі основна система – антиген і антитіло.

Реакція гальмування гемаглютинації (РГГА) належить до серологічних реакцій імунітету. У РГГА специфічні противірусні антитіла, взаємодіючи з вірусом (антигеном), позбавляють його властивості склеювати еритроцити.

Реакція нейтралізації вірусів. В основі реакції лежить здатність специфічних антитіл міцно зв'язуватись з вірусом, у результаті вірус не може адсорбуватись на чутливих клітинах і розмножуватись в них. Для постановки реакції необхідна наявність **віруса, сироватки**, яка містить антитіла, і **біологічного об'єкта**.

Імуноферментний метод (ІФА). В імуноферментних методах антиген взаємодіє з антитілом, при цьому один з реагентів зв'язаний з ензимом. Для виявлення цієї ензимної мітки необхідний відповідний субстрат (хромоген), який реагує в місці з'єднання антигена з антитілом з мобілізованим ферментом, змінюючи забарвлення реагуючої суміші.

Для такої мітки широко використовується фермент – пероксидаза хрому, яка в залежності від субстрату дає різнокольорові продукти реакції.

Розрізняють прямі і непрямі імуноферментні методи.

Прямий метод. На першому етапі реакції антиген реагує з антитілом, міченим пероксидазою, потім до утвореного комплексу додають відповідний субстрат (наприклад, H_2O_2 і 5-аміносаліцилову кислоту).

Непрямий метод. Спочатку антиген реагує з антитілами, утворюючи комплекс антиген – антитіло, після промивання у систему вносять протиглобулінові антитіла, мічені пероксидазою, які зв'язуються з першим комплексом. Після наступного промивання вносять субстрат, який, розкладаючись адсорбованим ензимом, зумовлює появу відповідного забарвлення.

Для виявлення антигенів збудника в досліджуваному матеріалі за допомогою реакції ІФА у виїмки вносять декілька зразків досліджуваних матеріалів, у яких виявляють антиген. Після 30-ти хвилинної інкубації в термостаті виїмки промити промивним розчином і внести кон'югат - антитіла, з'єднані з пероксидазою. Після 30-ти хвилинної інкубації знову промити виїмки і внести суміш пероксиду водню і хромогену. Після 30-ти хвилинного витримання в термостаті реакцію зупиняють стоп-реагентом і відмічають номери зразків, у яких виявлено антиген (зміна кольору хромогена).

Для виявлення антитіл у сироватках в реакції ІФА у виїмки вносять зразки досліджуваних сироваток, а після інкубації та промивання - кон'югат (мічені пероксидазою антитіла проти імуноглобулінів людини). Після повторної інкубації та промивання внесено субстрат і хромоген. Відмітити, у яких зразках сироваток виявлено специфічні антитіла.

Імуноблотинг. Для проведення імуноблотингу досліджувані антигени спочатку розділяють з допомогою електрофорезу в гелі. Одержані фракції електрофоретично переносять на листок нітроцелюлози (блот), який знаходиться в спеціальній камері. Фіксовані блоти обробляють специфічними до антигена антитілами, відмивають і додають радіоактивно мічений кон'югат для виявлення антитіл, які зв'язались з антигеном.

Після повторного промивання листок нітроцелюлози розміщують в касеті з рентгенівською плівкою для радіоавтографії. На проявленій плівці появляться смуги локалізації антигена, який зв'язав мічені антитіла.

Замість радіоактивної мітки можна використати люмінесцентні антитіла або антитіла, кон'юговані з ферментом. В останньому випадку субстрат для ензима (хромоген) повинен бути попередньо нанесений на нітроцелюлозну мембрану.

Генодіагностика. Реакція молекулярної гібридизації. З досліджуваного матеріалу хімічними методами виділяється ДНК, при нагріванні нитка ДНК розкручується і в такому стані фіксується на носії (твердій фазі). Через носій пропускається ДНК-зонд - специфічна ділянка ДНК, комплементарна до ДНК, яка виявляється. ДНК-зондом мічена радіоактивним ізотопом або ферментом. Внаслідок реакції молекулярної гібридизації між досліджуваною ДНК та ДНК-зондом, нитка фіксується на твердій фазі й виявляється радіологічними або біохімічними методами.

Полімеразна ланцюгова реакція. В основі реакції лежить методика синтезу копій досліджуваного гена в спеціальних автоматичних приладах - ампліфікаторах. Основою тест-системи в ПЛР є праймери -синтетичні олігонуклеотиди, комплементарні до певної ділянки гена, що виявляється і фермент ДНК-полімераза. Система також містить нуклеотиди, з яких синтезуються копії гена. Цикл ПЛР складається з послідовних процесів синтезу і плавлення (розкручування ниток ДНК). Під час синтезу праймер приєднується до комплементарної ділянки ДНК гена, який копіюється (ампліфікація), утворюючи двоспиральну структуру. З цієї двоспиральної ділянки ДНК-полімераза започатковує синтез копії гена. При нагріванні ця новосинтезована ДНК розкручується на 2 нитки, які в свою чергу, знову копіюються при охолодженні з утворенням чотирьох ниток. Після 30-40 циклів ген копіюється в достатніх кількостях і виявляється в реакції молекулярної гібридизації.

ПІДПИС ВИКЛАДАЧА _____

Дата

Тема: Герпесвіруси 1-8 типів. Діагностика захворювань, що викликаються герпесвірусами.

Основні питання теми:

1. Загальна характеристика і класифікація родини герпесвірусів.
2. Біологічні властивості вірусів простого герпесу 1-2 типів. Патогенез захворювань.
3. Персистенція збудника в організмі людини. Лабораторна діагностика захворювання.
4. Віруси оперізуючого герпесу і вітряної віспи. Особливості антигенної будови. Методи лабораторної діагностики.
5. Препарати для лікування герпетичної інфекції.
6. Віруси цитомегалії.
7. Віруси Епштейн-Бар.
8. Синдром хронічної втоми.
9. Саркома Капоші.

Герпесвірусні інфекції (англ. *herpesviral infections*) — група інфекційних захворювань, які спричинюють віруси родини герпесвірусів (англ. *Herpes viruses*). Натепер відомо більше 100 герпесвірусів, серед яких для людини патогенними є 8 вірусів (або типів людських вірусів). Поділяються на 3 підродини, куди входять віруси, що спричинюють захворювання у людей:

альфа-герпесвіруси: герпесвіруси людини 1 та 2 типу (ГВЛ—1 та ГВЛ—2, вони ж віруси простого герпесу 1 та 2 типів (ВПГ—1 і ВПГ—2), герпесвірус людини 3 типу (ГВЛ-3 — вірус вітряної віспи та оперізуючого лишая). Вони швидко поширюються, мають короткий цикл репродукції в клітинах, зумовлюють цитоліз та латентну інфекцію в нейронах^[2].

бета-герпесвіруси: герпесвірус людини 5 типу (ГВЛ—5, цитомегаловірус — збудник цитомегаловірусної інфекції (ЦМВ-інфекції), герпесвірус людини 6 типу (ГВЛ—6) герпесвірус 7 типу (ГВЛ—7). Повільно розмножуються, спричиняють цитомегалію, мають тропність до епітеліальних клітин слинних залоз, сечових шляхів, шийки матки і нирок.

гама-герпесвіруси: герпесвірус людини 4 типу (ГВЛ-4, VEB, вірус Епштейна-Барр), герпесвірус людини 8 типу (ГВЛ-8), Інфікують лімфоїдні клітини, мають тропізм до Т— і В—лімфоцитів з тривалою персистенцією в них, спричиняють лімфопроліферативні хвороби.

Морфологія. Віріони з діаметром 150-220 нм. володіють суперкапсидом, що містить ліпиди клітки-хазяїна і вірусоспецифічні глікозилізовані білки. Серцевина віріона представлена нуклеокапсидом кубічної симетрії (ікосаедром), що складається з 162 капсомерів.

Геном вірусу - лінійна ДНК, що містить крім інших генів і онкогени (гени, що відповідають за трансформацію клітин. Віріони мають діаметр 120–150 нм. Внутрішній компонент представлений ядром розміром 75 нм, що містить ДНК, намотану навколо циліндричної маси. Ядро знаходиться у білковому капсиді, розміром 100—110 нм. Капсид складається з 162 однакових, геометрично правильних білкових структур — капсомерів. Капсомери точно підібрані і припасовані одне до одного, формуючи ікосаедр. Капсомери на гранях представляють шестикутні призми, а на кожній з 12-ти вершин капсомери п'ятигранні. Капсид оточений аморфним білковим тегументом і все це заключено у глікопротеїнову оболонку з шипиками на поверхні. Між капсидом та ліпопротеїною оболонкою розташований шар, розмір якого значно варіює у різних герпесвірусів. Усередині зрілого віріона міститься 35—45 різних білкових молекул.

Віруси – представники родини *Herpesviridae*, патогенні для людини

Підродина	Рід	Види, патогенні для людини	Захворювання
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	ВПГ-1 ВПГ-2	Герпетичний кератит Herpes labialis Генітальний герпес Герпес новонароджених Герпетичний енцефаліт Дисемінований герпес Герпетичний менінгоенцефаліт
	<i>Varicellovirus</i>	Вірус Varicella zoster	Вітряна віспа, оперізуючий лишай
	<i>ILTV-подібні віруси</i>	Вірус інфекційного ларинготрахеїту (ВІЛТ)	Інфекційний ларинготрахеїт
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	Цитомегаловірус	Цитомегаловірусна інфекція
	<i>Roseolovirus</i>	Вірус герпесу людини 6А (ВГЛ-6А) Вірус герпесу людини 6В (ВГЛ-6В) Вірус герпесу людини 7- ВГЛ-7	Тропні до Т-лімфоцитів Псевдочервона висипка (розеола інфанта, розеола дитяча, розеола субітум) Псевдочервона висипка (теж саме)
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i>	Вірус Епштейна-Бара (ВЕБ)	Інфекційний мононуклеоз, хронічна, активна ВЕБ-інфекція лімфома Беркіта назофарингеальна карцинома саркома Капоші
	<i>Rhadinovirus</i>	Герпесвірус, асоційований з саркомою Капоші (ВГЛ-8) Церкопитековий (мавпячий) вірус герпесу типу В	Саркома Капоші Викликає захворювання у людини по типу ГРВІ

Культивування. Вірус простого герпесу культивується в хоріон-алантоїсній оболонці курячого ембріона, викликаючи утворення некротичних вогнищ. Вірус вітряної віспи і що оперізуючого герпесу добре розвивається в культурі людської ембріональної легеневої і ниркової тканини. В інфікованих клітинах формуються внутрішньоклітинні включення, утворюються симпласти.

Антигенна структура. Вірус герпесу містить два антигени V-антиген, міцно зв'язаний з вірусною часткою і розчинний S-антиген. За антигенною структурою розрізняють віруси герпесу типу 1 і 2. Усі віруси герпесу характеризуються схожими біологічними властивостями: широким поширенням, циркуляцією серед населення, тривалій персистенції в організмі людини, здатністю викликати різноманітні клінічні синдроми з поразкою слизових оболонок (око, порожнини рота, зовнішніх полових органів) і шкіри, внутрішніх органів і центральної нервової системи, включаючи уроджені пороки розвитку.

Резистентність. Стійкість вірусу невисока. Він гине при температурі 52^{оc} і від висушування при температурі 90^{оc} протягом 30 хвилин, чутливий до дії 0,5% розчину формаліну, 1% розчину фенолу, перманганату калію, ефіру, хлороформу, алкоголю й інших дезінфікуючих речовин, довгостроково зберігається в 50% розчині гліцерину, при низьких температурах і у висушеному стані.

Патогенез. Первинне зараження вірусом простого герпесу (ВПГ) відбувається

контактним чи повітряно-краплинним шляхом у раннім дитинстві. Реальна можливість внутрішньоутробного чи зараження під час пологів. Воротами інфекції є шкіра, слизові оболонки. Після інфікування реплікація вірусу починається в клітинах епідермису і власне шкіри, а пізніше вірус інює чуттєві вегетативні нервові закінчення і по аксоні поширюється до тіла нервової клітки в ганглії. Потім по периферичних чуттєвих нервових закінченнях вірус мігрує, приводячи до шкірної інфекції.

Клінічна картина захворювання виявляється у виді герпетичної лихоманки з появою герпетичних пухирців, що розташовуються на границі шкіри і слизових оболонок - на губах, носі, на внутрішній поверхні губ, щік, на статевих органах.

Клінічне видужання не завершується звільненням організму від вірусу: він зберігається там протягом усього життя, періодично обумовлюючи рецидиви хвороби.

Проникнення вірусу в деякі клітини (наприклад, у нейрони) не супроводжується реплікацією вірусу і загибеллю клітин - вірус переходить у стан латенції, механізм якої не встановлений. Через якийсь час може відбуватися реактивація вірусу з наступними клінічними ознаками прояву захворювання. Факторами реактивації є інфекційні хвороби (малярія, грип, пневмонія, менінгіт), інтоксикація, охолодження, психічні розлади, менструація, погіршеності в дієті й інші порушення нормального стану організму, ультрафіолетове опромінення, травма шкіри, а також імуносупресія. ВПГ типу 1 обумовлює переважно враження респіраторних органів, з вірусом простого герпесу типу 2 зв'язане виникнення генітального герпесу і генералізована інфекція немовлят.

Вітряна віспа — вітрянка, контагіозне вірусне захворювання з групи герпесвірусних інфекцій, яке характеризується переважним ураженням дітей, помірною загальною інтоксикацією, поліморфною екзантемою з переважанням везикул. Після клінічного видужання вірус тривало персистує у нейронах у вигляді латентної інфекції, при активізації якої розвивається оперізуючий герпес.

До вірусу вітряної віспи і оперізуючого герпесу в природних умовах сприйнятливі тільки люди. Вітряна віспа найчастіше уражає дітей до 10 років. Після 2-3 тижневого інкубаційного періоду в хворих відзначається підвищення температури тіла, озноб, загальна млявість, втрата апетиту, іноді блювота і понос. За 1-2 дні з'являється кореподібна чи скарлатино подібна висипка, що зникає через 1-2 дні. Для вітряної віспи характерне утворення в роті і зіві пухирців.



Висипання супроводжується підвищенням температури, сверблячкою. До 5 дня висипання припиняється. У дорослих захворювання протікає важче.

Оперізуючий герпес в основному спостерігається в дорослих. Вважають, що причиною його є активація під дією різних стресорних факторів збудника, що знаходиться в латентному стані. Вірус викликає розвиток везикул, таких же, як і при вітряній віспі, але локалізованих на обмеженій поверхні, частіше по ходу міжреберних нервів. Захворювання супроводжується дискомфортом, сверблячкою і невралгічними болями, іноді підвищенням температури. Після перенесеного захворювання розвиваються тривалі невралгії, паралічі лицьового нерва й ін.

Усі віруси герпесу здатні викликати неопластичну трансформацію клітинних культур. Клінічні спостереження свідчать про асоціацію вірусу Епштейна-Барр з лімфомаю Беркітта, назофарингіальною карциномаю, імунобластоїдними пухлинами кісткового мозку, а вірусу цитомегалії - з раком товстої кишки.

Герпетичні ураження порожнини рота

Герпетичні ураження порожнини рота найчастіше спричиняє герпесвірус першого типу. Хвороба проявляється у двох варіантах - гострий герпетичний стоматит і хронічний рецидивуючий стоматит.

Гострий герпетичний стоматит розвивається при первинному інфікуванні, яке настає у дітей після шестимісячного віку. Джерелом інфекції є особи з найближчого оточення дитини, у яких є прояви рецидивного герпесу. Проте, інфікування може наступити і в іншому віці в осіб, у яких відсутній специфічний імунітет. Інкубаційний період - 3-4 дні. Хвороба починається гостро, з підвищення температури до 39-41° С. Через 1-2 дні виникає біль у ротовій порожнині, слизова оболонка гіперемійована, набрякла, пізніше з'являються дрібні везикули, які швидко переходять у афти. Афта - це ерозія з рівними краями, покрита сірим нальотом. Локалізація переважно на піднебінні, язика, щоках. Розвивається гострий катаральний гінгівіт по краю ясен. Збільшуються регіонарні лімфатичні вузли. Перебіг хвороби переважно доброякісний, афти заживають без рубців.

Хронічний рецидивний герпес проявляється у будь-якому віці в осіб, попередньо інфікованих. Сприяють рецидиву такі фактори як охолодження, гострі бактеріальні інфекції, стреси, у жінок - гормональні зміни під час місячного циклу. У порожнині рота рецидивний герпес проявляється у вигляді ерозій, які переходять у виразки.

Оперізуючий герпес (Herpes zoster) Викликається вірусом герпесу третього типу. Типова клінічна картина Herpes zoster прооявляється підвищенням температури, різко вираженим больовим синдромом невралгічного характеру (за ходом певної вітки нерва), появою висипань. У порожнині рота вони можуть мати везикулярний, геморагічний або некротичний характер. Процес, як правило, односторонній, його локалізація відповідає зоні інервації певної частини трійчастого нерва.

Імунітет. Діти першого року життя рідко хворіють простим герпесом. Це обумовлено плацентарним імунітетом. ВПГ є слабким індуктором інтерферону, постинфекційний імунітет не виробляється.

Несприйнятливість після перенесеної вітряної віспи зберігається протягом усього життя. Повторні захворювання вкрай рідкі.

Лабораторна діагностика. Основним лабораторним методом діагностики ВПГ є вірусологічний і метод серодіагностики. Вірус виділяють зараженням хорион-аллантаоїсної оболонки курячого ембріона. Для ВПГ характерні внутрішньоядерні включення, специфічний антиген. Однак виявлення вірусу не може служити критерієм для розпізнавання хвороби, тому що вірусоносителство поширено серед 70-90% дорослого населення.

Серодіагностика заснована на виявленні наростання титру специфічних вірусних антигенів і антитіл у крові хворих у динаміку захворювання за допомогою методів иммуноферментного аналізу (ИФА) і методу флюоресцируючих антитіл (МФА). Розпізнавання вітряної віспи і що оперізує герпеса звичайно проводять на підставі клінічної картини й епідеміологічних даних. З лабораторних методів застосовують вірусоскопію умісту везикул, а також виявлення збудника за допомогою флюоресцируючих антитіл.

Вірус Епштейна—Барр (Virus Epstein-Barr, VEB) або герпесвірус людини типу 4, який відносять до родини герпесвірусів, підродина гаммагерпесвірусів.

Основна характеристика вірусу Епштейна-Барр:

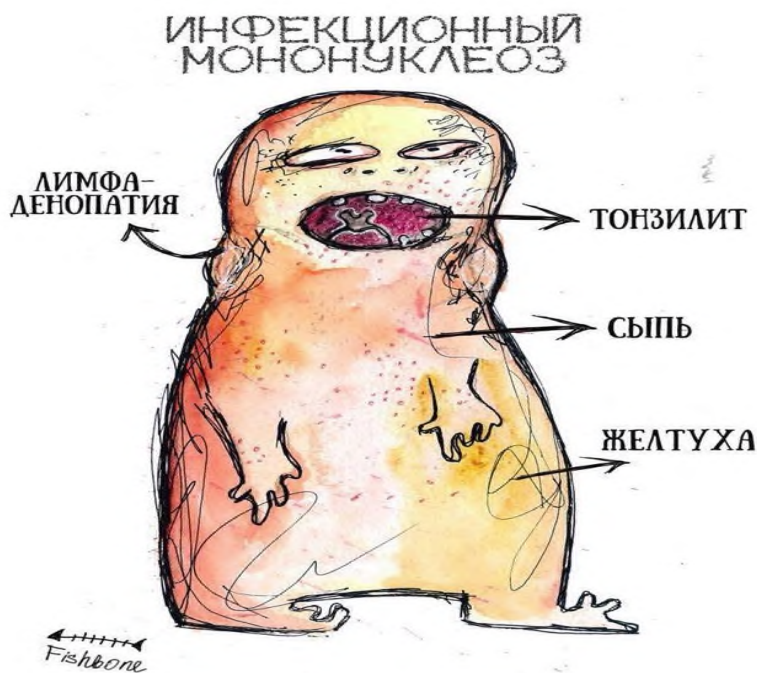
- В-лімфотропний ДНК-вмісний вірус людини;
- належить до родини герпесвірусів (*Herpesviridae*);
- входить до підродина γ-герпесвірусів;
- є герпесвірусом людини 4-го типу (ГВЛ-4);
- містить суперкапсид (зовнішня оболонка), нуклеокапсид, двоспиральну молекулу

ДНК;

- має онкогенні властивості;
- виявляє тропізм до В- та Т-лімфоцитів.

Зрілі віруси мають сферичну форму діаметром 150–200 нм ВЕБ, зовнішню оболонку (суперкапсид) та нуклеокапсид, між якими розташовано тегамент, що містить білки, необхідні для ініціації реплікації, а також лінійну двониткову молекулу ДНК. ВЕБ поширений на всій земній кулі. У країнах, що розвиваються, в соціально несприятливих родинах більшість дітей ВЕБ інфікує до трирічного віку, а решта населення — до повноліття. В розвинутих країнах інфікування ВЕБ може відбутися і пізніше. ВЕБ виділяється з організму хворого або вірусоносія з орофарингеальним секретом — основним вектором інфікування. ВЕБ передається повітряно-краплинним механізмом через інфіковану слину, часто через поцілунок, найбільше від дівчат та молодих жінок до хлопців та молодих чоловіків, тому ІМ часто називають «хворобою наречених та поцілунків». Діти нерідко заражаються ВЕБ через іграшки, забруднені слиною хворого або вірусоносія, іноді через поцілунок батьків. Можливі гемотрансфузійний та статевий шляхи передачі інфекції. Описано випадки вертикальної передачі ВЕБ від матері плоду, припускають, що цей вірус може призводити до розвитку вродженої ВЕБ-інфекції. Контагіозність ВЕБ помірна, що, ймовірно, пов'язано з низькою концентрацією вірусу в слині. У поширенні інфекції значну роль відіграє тісний контакт, спільне користування хворих та здорових людей посудом, постільною білизною. Активації латентної інфекції сприяють фактори зниження загального і місцевого імунітету

Інфекційний мононуклеоз — захворювання з групи герпесвірусних інфекцій, яке найчастіше спричиняє герпесвірус людини 4-го типу — вірусом Епштейна-Барр, рідше — цитомегаловірус. Хвороба характеризується слабкою інтоксикацією, помірною гарячкою, генералізованою лімфаденопатією, тонзилітом, збільшенням печінки і селезінки (гепатоспленомегалія), характерними змінами гемограми. Джерелом інфекції є хворі, переважно перші 10-12 днів захворювання; хвороба поширюється повітряно-крапельним механізмом. Окрім поодиноких (спорадичних) випадків, можливі спалахи, що охоплюють іноді великі колективи. Спостерігають чітку сезонність захворювань, які зростають у осінньо-зимовий період та навесні. Збудник вкорінюється через слизову оболонку ротової порожнини та мигдалики, проникає до регіонарних лімфатичних вузлів, а потім потрапляє у кров.



Кровоутворюючі органи відповідають на інфекцію порушенням функціонування.

Синдром хронічної втоми (СХВ, англ. *Chronic fatigue syndromes (CFS)*) —

патологічний стан, який проявляється у вигляді хронічної втоми, яка триває не менше ніж 6 місяців та призводить до когнітивних труднощів. Хоча вважають, що цей синдром не має чіткої причини, але спостерігають його розвиток досить часто при герпесвірусних інфекціях, особливо при хворобі, яку спричинює герпесвірус людини 7-го типу (ГВЛ—7, HHV—7) та герпесвірус людини 6-го типу (ГВЛ—6, HHV—6). Не виключають також у розвитку цього синдрому роль інших герпесвірусів, деяких ентеровірусів, пневмокока тощо. Відносно часто спостерігають цей синдром у клінічному перебігу й інших захворювань — фіброміалгія, астенія, депресії, неврози тощо. Також вважається, що взаємодія таких факторів, як послаблена та порушена імунна система, віруси, ендокринні (гормональні) порушення, токсини, низький тиск, брак вітамінів та мікроелементів, часті стреси, безсоння, генетичні особливості організму можуть сприяти виникненню хронічної втоми.

Основні клінічні ознаки синдрому хронічної втоми:

- раптове виникнення виснажливої слабкості;
- втома прогресує і не проходить після відпочинку;
- у хворого майже вдвічі знижується працездатність протягом останніх до обстеження шести місяців;
- немає інших видимих відомих причин або виснажуючих хвороб, які можуть спричинити неминущу втому.

Типовими клінічними проявами для розвивається синдрому хронічної втоми на ранніх стадіях є:

- слабкість, швидка стомлюваність, яка не проходить навіть після тривалого відпочинку; наростаючі розлади уваги,
- підвищена подразливість і нестійкість емоційно-психічного стану;
- повторюваний і наростаючий головний біль, не пов'язані з будь-якою патологією;
- розлади сну і порушення формули сну у вигляді денної сонливості та безсоння вночі; часте і інтенсивне куріння з метою розумової стимуляції вдень, щоденні вечірні прийоми алкоголю для зняття нервово психічні порушення ввечері, що приводить до широкого поширення побутового пияцтва;
- зниження ваги
- біль в суглобах, зазвичай великих і хребті;
- апатія, безрадісний настрій, емоційна пригніченість.

Саркома Капоші — злоякісна пухлина на стінках кровоносних судин, що видима крізь шкіру і / або слизові оболонки. Саркома Капоші, як правило, являє собою безболісні плями або вузлики червоного, фіолетового або бурого кольору на поверхні шкіри, слизових оболонках або, рідше, — на внутрішніх органах. Саркома Капоші при ВІЛ-інфекції дає підставу для діагностування її IV клінічної стадії — СНІДу. Причиною захворювання є герпесвірус людини 8-го типу (ГВЛ-8, HHV-8, СКАГВ — асоційований з саркомою Капоші герпесвірус, англ. *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*. Він належить до роду *Rhadinovirus*, підродини *Gammaherpesvirinae*, родини *Herpesviridae*. Він є одним з 7 відомих на даний момент, доказаних онковірусів.



Негативний вплив ГВЛ-8 проявляє лише у випадку стійкого зниження імунітету або під час тривалого лікування, що знижує імунітет (після трансплантації органів, променевої терапії тощо). За даними досліджень, у 45 % людей, що мали одночасно ВГЛ-8 та ВІЛ,

протягом 10 років розвивалася саркома Капоші. Однак на людей з нормальним рівнем імунітету ВГЛ-8 не чинить жодного впливу. Дослідження ВГЛ-8 тривають.

Лікування. Герпетична інфекція у всіх клінічних формах піддається впливу протівірусних препаратів. Найбільш діючими з них є Зовиракс (Zoviraxum). Синоніми: Ацикловир, Виролекс. При терапії вітряної віспи відзначається ефективність застосування лейкоцитарного людського інтерферону. Противогерпетичні препарати, успішно застосовувані при інших хворобах, при цитомегаловірусних інфекціях виявилися неефективними.

Для профілактики рецидивів герпетичної інфекції використовується протигерпетична вакцина.

Практична робота студентів.

Завдання 1. Замалювати герпесвіруси.

Завдання 2. Написати латинські назви бактерій-асоціантів при герпесвірусній інфекції.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

Завдання 5. Замалювати специфічні тільця при герпесній інфекції.

Підпис викладача _____

Дата

Заняття

Тема: Мікробіологічна діагностика захворювань, що викликаються

аденовірусами

Основні питання теми

1. Загальна характеристика родини аденовірусів. Класифікація.
2. Аденовіруси людини, їх характеристика, біологічні особливості.
3. Патогенез, клініка захворювань. Індукція пухлин аденовірусами.
4. Лабораторна діагностика аденовірусних захворювань.
5. Специфічна профілактика.

Аденовіруси — ДНК-вмісні віруси, викликають гострі респіраторні захворювання людини та тварин: фарингіти, атипові пневмонії, грипоподібні захворювання. Аденовіруси мають форму ікосаедрів діаметром 60 — 80 нм, які містять приблизно 200 — 250 капсомерів. Частинки не мають зовнішньої оболонки. Віруси складаються з нуклеїнової кислоти та білків, ліпідів не містять. Розмножуються тільки в культурах тканин того виду тварин, у якого викликають захворювання. Мають виражений тропізм до клітин епітелію.

Віріони мають форму ікосаедра діаметром 70-90 нм, що складається з 252 капсомерів з діаметром 7-9 нм. З них 240 капсомерів утворюють 20 різносторонніх трикутника, кожен має 6 сусідніх капсомерів і тому називається гексоном. Гексон побудований з 3-6 молекул білка II, складаючого біля 50% від всіх білків віріона. Групи з дев'яти гексонів зв'язані з двома додатковими мінорними білками (VII і IX). На дванадцяти вершинах ікосаедра знаходяться булаво видні виступи довжиною від 8 до 30 нм з головкою на кінці величиною 4 нм. Вони відходять від вершин дванадцяти капсомерів, що мають 5 сусідніх. Ці капсомери разом з виступами називаються пентонами, капсомери — основою пентонів, нитки — фібрами. Всередині капсида знаходиться серцевина з діаметром 66 нм, що представляє правильно організовану структуру з 12 петель. Вершини петель збігаються з вершинами капсида і на зрізі віріона серцевина утворює фігуру подібну квітці. Петлі утворені дезоксирибонуклеопротейдом, що складається з ДНК і асоційованим з ним білком VII. Другий внутрішній білок V знаходиться на зовнішній поверхні в культурі клітин людини. Формування вірусу відбувається в ядрах клітин, де виникають характерні кристали, потім віріони з'являються у цитоплазмі. Цитопатичний ефект спостерігається через 24 — 96 годин, в залежності від серотипа вірусу. Аденовіруси мають два антигена — групоспецифічний розчинний антиген, який виявляється реакцією зв'язування комплементу та типоспецифічний антиген, який виявляється в реакціях нейтралізації та гальмування гемаглютинації. За антигенними та серологічними властивостями розрізняють серотипи, кожен з яких позначають цифрами 1, 2, 3, 4, і т. д.

Патогенез. Вражають слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, викликаючи захворювання з різними симптомами: фарингіт, фаринго-кон'юнктивальну лихоманку, кон'юнктивіт, атипову пневмонію, грипоподібні захворювання та діарею у дітей. Деякі захворювання викликаються переважно одним певним серотипом. Захворювання продовжується 4—7 днів, закінчується одужанням та формуванням типоспецифічного імунітету. Кров людей, що одужали містить віруснейтралізуючі та комплементзв'язуючі антитіла.

Клінічні прояви

Аденовіруси уражають слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, спричиняють різні клінічні форми:

- аденовірусна хвороба (риніт, фарингіт, тонзиліт, ринофаринготонзиліт, трахеобронхіт) (серотипи 1, 2, 3, 5, 6, 7);

- фарингокон'юнктивальну гарячку (серотипи 3, 4, 7);
- епідемічний кератокон'юнктивіт (серотипи 8, 19, 37);
- пневмонію (серотипи 3, 7, 14, 21, 30);
- геморагічний цистит (серотипи 11, 21);
- гастроентерит (серотипи 40, 41 тощо);
- ураження нервової системи (енцефаліт, менінгоенцефаліт, полірадикулоневрит);
- захворювання при імунодефіцитах, у тому числі при СНІДі.

Деякі форми спричинює переважно один певний серотип. Захворювання продовжується 4 — 7 діб, закінчується одужанням та формуванням типоспецифічного імунітету. Кров людей, що одужали, містить віруснейтралізуючі та комплементзв'язуючі антитіла.

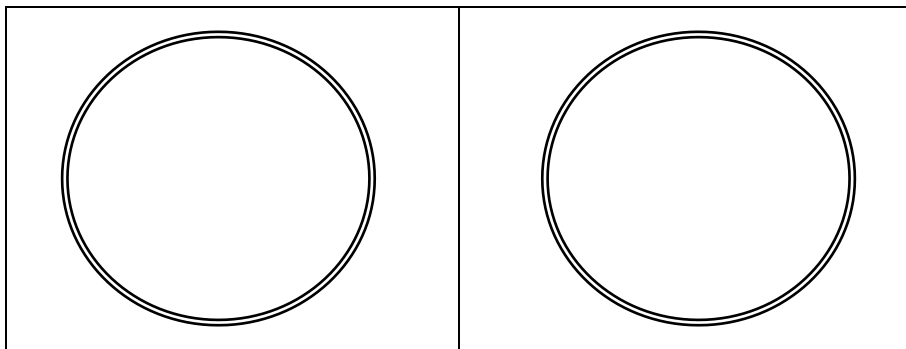
Діагностика здійснюється виділенням вірусів та серологічними реакціями. Для виділення роблять змив з слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, кон'юнктиви або фекалій. Досліджуваним матеріалом заражають культури клітин. Спостереження проводять протягом 2 тижнів. Наявність віруса та його приналежність до аденовірусів визначають досліджуючи цитопатичну дію. Типування проводять в реакції нейтралізації з типоспецифічними сироватками. Для серологічного діагноза двічі беруть кров хворого в перші дні захворювання та в період одужання. З крові отримують сироватку та визначають наявність антитіл за допомогою реакцій нейтралізації, зв'язування комплексу та гальмування гемаглютинації.

Джерело та резервуар віруса — хвора людина. Інфекція передається повітряно-крапельним шляхом. Захворювання частіше за все мають спорадичний характер, але можуть спостерігатися епідемічні спалахи.

Противірусна терапія і профілактика. Для лікування використовують препарати, які специфічно діють на аденовіруси. Перспективними в цьому плані є аналоги метаболітів нуклеїнових кислот 6-азауридин, азагуанін, йоддезоксидуридин, а також ДНК-аза. При кератитах і кон'юнктивітах ефективний інтерферон. Відомі формолова і жива атенуйована вакцини проти аденовірусів окремих типів. Вони відрізняються високою імуногенністю та ареактивністю. Вивчається можливість виготовлення вакцини з окремих капсидних білків аденовірусів.

Практична робота студентів.

Завдання 1. Ознайомитись з характером враження культур клітин при аденовірусних інфекціях.



Підпис викладача _____

Дата _____

Заняття _____

Тема. Поксвіруси. Загальна характеристика. Вірус натуральної віспи, варіолоїду, алястриму. Патогенез, лабораторна діагностика, лікування.

Натуральна віспа є інфекційне захворювання людини, що відноситься до особливо небезпечних інфекцій, що викликається вірусом *Orthoroxvirus variola*, що характеризується лихоманкою, інтоксикацією і специфічними висипання на шкірі і слизових оболонках. Летальність становить до 30%. В даний час інфекція ліквідована. Основне джерело спалахів-біотероризм. Характерні виражені загальні симптоми і пустулезная висип. Лікування симптоматичне. Профілактика - вакцинація, яка проводиться вибірково, залежно від ступеня ризику зараження.

В результаті вакцинації з 1977 р. в світі не зареєстровано випадків натуральної віспи. Відомо щонайменше 2 штами вірусу натуральної віспи. Найбільш вірулентні штами викликає класичну натуральну віспу; менш вірулентний - білу **віспу (аластрім)**. Її характерні ознаки - загальна інтоксикація, лихоманка і специфічна висипка, що складається з бульбашок. Пухирці мають властивість зливатися, потім підсихати і гоїтися, залишаючи після себе потворні рубці - віспини. Правда, до моменту висипання клінічна картина дуже нагадує грип, що ускладнює діагностику.

Інкубаційний період віспи становить 10 -12 днів від моменту зараження. У перші дні хвороби температура тіла швидко підвищується до 39 - 40 °С, хворого морозить, нудить, розвиваються болі в животі, м'язах попереку та крижах. З четвертого дня хвороби стан пацієнта дещо поліпшується, і з'являється віспова екзантема - так медики називають висип. Спочатку вона виникає на обличчі, потім на тулубі, і тільки потім перебирається на кінцівки. Блідо-рожеві плями швидко перетворюються в папули темно-червоного кольору. У центрі папул через 2-3 дні з'являються бульбашки (везикули). На слизових оболонках висип представлений ерозіями і ранками. Через тиждень стан хворого різко погіршується, йде друга хвиля лихоманки (температура тіла досягає 40 °С), а висип нагноюється. На даному етапі можлива смерть від інфекційного колапсу. Поліпшення починається тільки до кінця другого тижня хвороби.

Вірус натуральної віспи належить до сімейства *Poxviridae*, підродині *Chordoroxvirinae*, роду *Orthoroxvirus*. До інших представників цього роду належить вірус вісповакцини, вірус віспи мишей, кроликів, корів, гризунів, верблюдов, мавп.

Морфологія. Вірус натуральної віспи є ДНК-вмісним, має форму паралелепіпеда з закругленими кутами, розміри його - 250-300 нм. Серцевина вірусу добре розрізняється у виді двовігнутого диска, біля її розташовані овальні структури - бічні тіла. Ці структури оточені зовнішньою оболонкою. Геном представлений двуспиральною лінійною нефрагментированной молекулою ДНК масою близько 132×10^6 D. До складу віріона входять 30-33 структурних білка, три з них зв'язані з ДНК і утворюють нуклеопротеїд, більш половини білків формують серцевину віріона, а інші розташовані в його зовнішній частині і на поверхні. Глікопротеїди поксвірусів знаходяться на зовнішній поверхні серцевини віріона, де вони утворюють шар так званих трубочок.

Крім структурних білків у складі віріона виявлено 10 ферментів, що забезпечують різні стадії репродукції вірусу. Однак маса генома поксвірусів настільки велика, що він може містити інформацію не менш чим про 80 білки-ферменти.

Зовнішня оболонка вірусу представлена ліпопротеїдами, серед яких переважають фосфоліпіди, синтезовані вірусом у цитоплазмі клітки. Поверхневі білки вірусу організовані у ворсинки, з якими зв'язані інфекційні властивості збудника.

Культивування. Вірус натуральної віспи добре розвивається в курячих ембріонах, викликаючи на хорион-аллантаїсній оболонці білих, дрібних, щільних крапкових поразок. Вірус добре культивується на первинній і клітинній культурах людини, що переживаються, мавпи, вівці й інших тварин, виявляючи виражене цитопатическое дія у виді округлення і

збільшення кліток з наступним їхнім відторгненням від скла.

Антигенна структура. У вірусу натуральної віспи не виявлено антигенних чи різновидів варіантів, він має загальні антигени з вірусом вакцини. Вірус віспи має загальні антигени з еритроцитами людини групи А і АВ.

Резистентність. Вірус стійкий до дії фенолу, висиханню, у висушених віспяних скоринках і в 50% гліцерині зберігається місяцями, легко переносить низьку температуру. Вірус чуттєвий до дії світла, при температурі 100^{оc} гине моментально, при 60^{оc} - протягом 1 години 1% розчини хлораміну, лізолу, фенолу інактивують вірус через 30 хвилин, а 1% розчин хлорного вапна - через 1 годину.

Патогенез у людини. Джерело хвороби - хвора людина. Зараження відбувається повітряно-краплинним і повітряно-пиловою шляхом, а також за допомогою контакту з заразним матеріалом. Були зареєстровані випадки віспи в людей, інфікованих вірусом мавпячої віспи. Репродукція вірусу починається через 1-1,5 години після зараження. Цикл репродукції вірусу завершується за 6-7 годин. Формування віріонів відбувається в цитоплазмі клітини-хазяїна.



Зрілі віріони доставляються через апарат Гольджі до клітинної оболонки і при виході з клітини здобувають двошарову зовнішню оболонку з компонентів клітини-хазяїна. Під час хвороби в крові знаходиться вірус, що володіє різко вираженими дерматотропними властивостями. Він також уражає слизові оболонки й інші тканини й органи.

Для натуральної віспи характерні лихоманка, висипання, утворення пустул і струпів на шкірі.

У стадії нагноєння приєднується вторинна (стафілококова і стрептококова) інфекція. Летальність у залежності від захворювання коливається в широких межах - від 0 до 100%; у середньому вона дорівнює 15-20%, при геморагічній формі - 100%. В людей із групою крові А і АВ натуральна віспа протікає важче, смертельні випадки і поствакцинальні ускладнення бувають частіше, постинфекційний і поствакцинальний імунітет слабкий.

Варіолоїд — легка форма віспи в людей, в яких є частковий імунітет, набутий внаслідок щеплень, характеризується відсутністю продромального періоду, короткочасним підвищенням температури (на 2-4 дні), невеликим висипом, що розташовується тільки на чолі, шиї, між пальцями рук та ніг; елементи висипу досягають неповного розвитку (пустул не спостерігається). Хвороба закінчується повним одужанням.

Лабораторна діагностика натуральної віспи включає вірусологічні (виділення вірусу на курячих ембріонах, клітинних культурах), серологічні (мікроферментний аналіз, реакція гальмування гемаглютинації, реакція зв'язування комплементу, реакція нейтралізації) і експрес-методи (виявлення під мікроскопом елементарних тілець-включень Пашена, виявлення вірусного антигену в біологічному матеріалі методами ІФА, РПГА).

Лікування. Специфічне лікування не розроблене. У перші дні хвороби застосовують противісповий імуноглобулін, отриманий із крові людей, спеціально вакцинованих проти віспи, а також метисазон.

Імунітет. У більшості людей, що хворіли віспою залишається стійкий імунітет.

Повторні захворювання вкрай рідкі. Застосування протівіспенної вакцинації привело до того, що в 1980 році ВООЗ оголосила про повну ліквідацію цієї хвороби в усьому світі, у зв'язку з чим щеплення проти віспи були повсюдно припинені.

Практична робота студентів.

Завдання 1. Замалювати вірус натуральної віспи.

Завдання 2. Замалювати тільця включень, які виявляють при діагностиці натуральної віспи.

Підпис викладача _____

Дата _____

Тема. Віруси – збудники ентеро- і нейроінфекцій. Віруси поліомієліту, ЕСНО, Коксакі, сказу. Загальна характеристика ротавірусів коронавірусів (SARS), аренавірусів.

Мета : Ознайомитись з патогенезом, основними принципами лабораторної діагностики вищевказаних інфекцій; вивчити біологічні особливості збудників.

Питання, що підлягають вивченню:

1. Загальна характеристика пікорнавірусів, класифікація, ультраструктура ентеровірусів.
2. Епідеміологія, особливості патогенезу і імунітету при ентеровірусних інфекціях.
3. Лабораторна діагностика поліомієліту і інфекцій, які викликають віруси Коксакі і ЕСНО.
4. Специфічна профілактика поліомієліту, типи існуючих вакцин.
5. Загальна характеристика рабдовірусів, морфологія та антигенна будова вірусу сказу, характеристика “вуличного” і “фіксованого” вірусів.
6. Епідеміологія, патогенез і лабораторна діагностика сказу.
7. Специфічна профілактика сказу, типи сучасних антирабічних вакцин .

Родина пікорнавірусів. Віруси поліомієліту, ЕСНО, Коксакі. Загальна характеристика родини.

Класифікація і будова пікорнавірусів

<p>Родина Picornaviridae Рід Enterovirus Поліовіруси (I-III типи) Коксакі А (24 серовари) Коксакі В (6 сероварів) ЕСНО (34 серовари) Некласифіковані ентеровіруси (68-72) Рід Cardiovirus Рід Rhinovirus Рід Aphotavirus</p>	<p>Розміри вірусів 22-30 нм Містять несегментовану молекулу +РНК Капсид складається з 60 капсомерів Тип симетрії – ікосаедричний Зовнішня оболонка відсутня Стійкі до органічних розчинників, виживають в кислому вмісті шлунку і резистентні до жовчних кислот.</p>
--	---

Основні захворювання, що спричиняються ентеровірусами

Захворювання	Поліовіруси	Віруси Коксакі		Вірус ЕСНО	Некласифіковані віруси
		Група А	Група В		
Безсимптомні інфекції	+	+	+	+	+
Вірусні менінгіти	+	+	+	+	+
Паралічі	+	+	+	+	-
Лихоманка з висипкою	-	+	+	+	+
ГРВІ	-	+	+	+	+
Міоперикардит	-	+	+	+	-
Орхіт	-	-	+	+	-

Поліовіруси викликають поліомієліт (хворобу Хайне-Медіна) – гостру інфекцію з ураженням нейронів продовгуватого мозку і передніх рогів спинного мозку.

Клінічні прояви: менінгеальна форма, паралітична форма (спінальний поліомієліт, бульбарний поліомієліт, спінально-бульбарні ураження), енцефаліти.

Епідеміологія. Основний механізм передачі – фекально-оральний. Природний господар – людина.

Специфічна профілактика – жива, атенуйована вакцина **Себіна**, вбита вакцина **Солка**.

Віруси Коксакі — це кілька споріднених серотипів ентеровірусів, які добре розмножуються в шлунку і кишечнику людини. Лікарям відомо до 30 різновидів таких вірусів, які відносять до трьох груп ентеровірусів людини: А, В і С. Вірус Коксакі провокує одну з головних причин захворювання асептичного менінгіту. Після перенесеної маніфестної або інаппарантної інфекції розвивається стійкий імунітет.



Ротова порожнина уражена вірусом Коксакі

Незважаючи на повну морфологічну схожість з поліовірусами, віруси Коксакі мають іншу антигенну структуру і перехресно не реагують з АТ до збудників поліомієліту.

За характером селективної патогенної дії вірусів Коксакі, що здійснюється при зараженні мишенят, поділяють на дві групи.

- Віруси Коксакі групи А викликають дифузний міозит із запаленням і осередковим некрозом поперечносмугастих м'язів.
- Віруси Коксакі групи В викликають ураження центральної нервової системи (вогнищеві дегенерації, паралічі), некроз скелетної мускулатури (іноді міокарда), запальні ураження селезінки та ін.

За структурою типоспецифічного АГ віруси Коксакі групи А поділяють на 24 серовара, віруси Коксакі групи В — на 6 сероварів.

Серовари вірусів Коксакі не містять групоспецифічних АГ, але мають перехресну реактивність. Віруси Коксакі поширені повсюдно; зростання захворюваності відзначають в літньо-осінні місяці. Резервуар вірусів Коксакі — інфікована людина (віруси також можуть циркулювати у різних тварин). Основні механізми передачі вірусів Коксакі — фекально-оральний і контактний (з виділенням носоглотки). Шляхи проникнення вірусів Коксакі і поширення ідентичні таким у поліовірусів.

Віруси групи А – викликають дифузний міозит із запаленням і вогнищевим некрозом поперечно-смугастих м'язів.

Віруси групи В – викликають ураження ЦНС (вогнищеві дегенерації, паралічі), некроз скелетної мускулатури та інколи міокарда, запальні ураження селезінки тощо.

Клінічні прояви: **Віруси групи А** – діареї у дітей, герпангіни, пухирчатки порожнини рота і кінцівок. **Віруси групи В** – міокардит новонароджених, багатобачна хвороба новонароджених (енцефаломіокардитний синдром), епідемічна плевродинія.

Епідеміологія. Основні механізми передачі – фекально-оральний і контактний. Природний господар – людина (але віруси можуть циркулювати і серед різних тварин, наприклад свиней). Особливістю лабораторної діагностики є те, віруси групи А погано культивуються в культурах клітин. Тому досліджуванним матеріалом найчастіше заражають мишенят-сисунців, а потім проводять ідентифікацію віруса.

ЕСНО-віруси виділені в окрему групу кишечних вірусів внаслідок відсутності їх патогенності для лабораторних тварин. (**Е** – Enteric, **С** – Cytopathogenic, **Н** – Human, **О** – Orphan). Клінічні прояви: “Простудні” інфекції (серовари 8-11,20), асептичні менінгіти (серовари 2-9, 12, 14, 16, 21), висхідні паралічі та енцефаліти, лихоманку з кореподібною висипкою.

Некласифіковані віруси містять 5 типів; типи 70, 71, 72 – патогенні для людини.

Ентеровірус 70 – викликає геморагічний кон'юктивіт. **Ентеровірус 71** – викликає асептичний менінгоенцефаліт. **Ентеровірус 72** – збудник гепатиту А.

Морфологія. Віруси прості, сферичної форми. Розміри 17-30 нм. РНК вмісні. **Антигенна будова.** Мають типоспецифічні АГ – білки капсиду (VP1-VP4), які визначають в РН та групоспецифічний АГ – внутрішній, який визначають в РЗК.

Резистентність: стійкі до детергентів, спиртів, ефірів; малочутливі до низьких температур; чутливі до альдегідів, фенолів, хлорвмісних сполук; чутливі до УФО; висушування. Вірус поліомієліту має 3 серотипи (I, II, III), Коксакі А має 23 серотипи, Коксакі В – 6, ЕСНО – 31 серотип.

Джерело інфекції: хвора людина або вірусносії.

Первинна репродукція відбувається в ентероцитах та лімфоїдному апараті тонкого кишківника. Віруси виділяються в кров (вірусемія). **Вторинна репродукція** відбувається в мотонейронах спинного та головного мозку. Розрізняють 2 форми поліомієліту: не паралітична, паралітична. Післяінфекційний *імунітет* довічний, типоспецифічний, який забезпечується віруснейтралізуючими антитілами (Ig M, G, A), клітинами імунної пам'яті.

Матеріал для дослідження: випорожнення, змиви із носоглотки, ліквор, кров, сироватка.

Методи дослідження: експрес-діагностика – РІФ, цитоскопічний метод: в клітинах, уражених вірусом виникає зсув хроматину до периферії ядра (ЕСНО, Коксакі), молекулярно-генетичний метод – ЛПР, серологічний метод – виявлення Ig M (в сироватці та СМР), Ig G (з

парними сироватками). Вірусологічний метод: культивування в культурі клітин, індикація (ЦПД, кольорова проба, бляшкоутворення), ідентифікація (РН ЦПД).

Профілактика: неспецифічна (виявлення і санація джерел інфекції, розрив механізмів передачі), специфічна (поліомієлітна жива атенуйована вакцина (3 типів), поліомієлітна вбита вакцина (3 типів)). **Лікування:** інтерферон, індуктори інтерферону, імуноглобулін.

Вірус сказу належить до родини рабдовирусів (рід ліссавірусів). **Будова віріону:** складний, 60-80 нм, РНК-геном. **Антигенна будова:** виділяють дикий штам та фікс-вірус. **Резистентність:** вірус чутливий до дії УФ променів, кип'ятіння, формаліну, лізолу, фенолу, хлораміну, перманганату калію, карболової кислоти, ефіру, спирту. **Культивування:** перещеплювані клітинні культури HeLa, курячий ембріон, білі миші. **Джерелом інфекції** є гризуни, куничні, рукокрилі, копитні, котяті, псові тварини. Зараження відбувається при укусах та ослинненні. Віруси залишаються в осередку ураження від 12 днів до року. Потім зв'язуються з тканиною, концентруються в нервово-м'язових контактах. До аксонів нейронів потрапляють в периневральному просторі та переносяться в ЦНС. Розмноження відбувається в цитоплазмі нейронів гіпокампа, довгастого мозку, ядрах черепно-мозкових нервів, симпатичних гангліях і клітинах Пуркін'є мозочка. Це приводить до посилення рефлекторної збуджуваності. Летальність становить 100%. **Імунітет:** у хворого на 9-11 день в сироватці крові та спинномозковій рідині виявляють віруснейтралізуючі антитіла. Має місце факт, що у 85% людей, покусаних хворою твариною, сказ не розвивається.

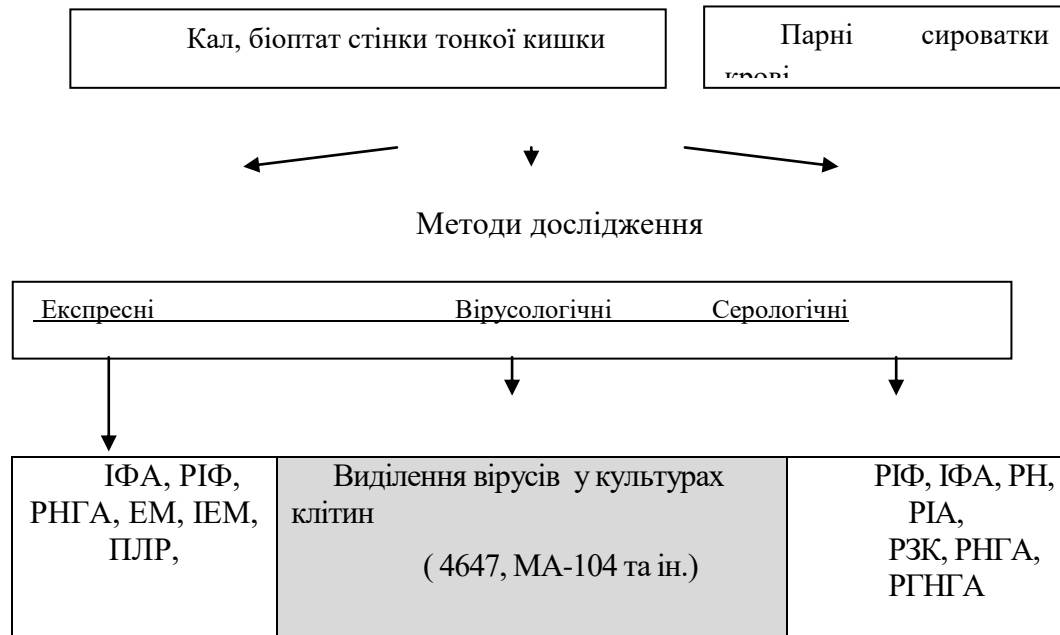
Матеріал для дослідження: слина хворих тварин, біоптат мозку загиблих тварин, сироватка крові хворих тварин. Експрес-діагностика (РІФ, ІФА, РІА). Молекулярно-генетичний метод (ЛПР). Серологічний метод (РЗК, ІФА, РГГА). Біологічний метод (зараження мишенят-сисунців). Цитоскопічний метод (виявлення специфічних тілець Бабеша-Негрі в препаратах зрізів мозочка, довгастого мозку і гіпокампу, зафарбованих за Туревичем або Муромцевим).

Профілактика: неспецифічна - виявлення та знищення хворих тварин; специфічна - використання культуральної інактивованої або живої атенуйованої вакцин для щеплень тварин та травмованих людей, використання для лікування специфічного імуноглобуліну.

Загальна характеристика ротавірусів коронавірусів (SARS), арена вірусів

Родина Coronaviridae 1. Під Coronavirus Патогенні для людини: а) респіраторні корона-віруси (SARS); б) ентеритні корона-віруси 2. Під Torovirus	Родина Arenaviridae Складається з 1 роду Arenavirus Патогенні для людини 8 видів, серед яких вірус лімфоцитарного хориомеїнігїту і вірус лихоманки Ласса	Родина Reoviridae Складається з 9 родів Патогенні для людини: Під Orthoreovirus 2. Під Orbivirus 3. Під Rotavirus 4. Під Coltivirus
Віріони коронавірусів сферичної плеоморфної форми діаметром 75-160 нм. Суперкапсид з великими булавоподібними шипами, які містять глікопротеїни S і HE. Капсид спірального типу симетрії, Вірус має РНК-залежну РНК-полімеразу.	Віріони сферичної форми, плеоморфні, діаметром 50-300 нм. Суперкапсид з великими шипами, які не мають гем аглютинуючих властивостей. Усередині суперкапсиду містяться гранули-	Віріони ротавірусів сферичної форми, діаметром 102 нм. Суперкапсид відсутній. Мають 3 капсиди. На зовнішньому капсиді розташовані шипи і пори, які проходять з поверхні у внутрішній капсид.

Схема лабораторної діагностики ротавірусної інфекції
Матеріал для дослідження



ПРАКТИЧНА РОБОТА

Завдання 1. Віруси поліомієліту спричиняють ЦПД, яка проявляється загальними дистрофічними змінами. В мікропрепараті інфіковані клітини заокруглені, з блідим ядром, вакуолізованою цитоплазмою на відміну від здорових клітин, які мають видовжену форму, інтенсивно забарвлене ядро, гомогенну цитоплазму. **Мікроскопічну картину замалювати.**

Завдання 2. Замалювати тільця Бабеша-Негрі в клітинах амонного рогу.

При розмноженні вірусу сказу у нервових клітинах (гіпокамп або амонів ріг, міст, ретикулярна формація головного мозку) в цитоплазмі клітин утворюються включення, які складаються із вірусних білків. Ці включення названі тільцями Бабеша-Негрі (прізвища

вчених, які їх вперше виявили в мозку скажених тварин і описали). Для виявлення тілець Бабеша-Негрі використовують різні методи забарвлення. При забарвленні за Муромцевим включення мають яскраве червоно-фіолетове забарвлення. Сучасна постмортальна експрес-діагностика сказу полягає у виявленні включень імунофлюоросцентним методом.

Завдання 3. Ознайомитись з вакцинами, біопрепаратами, що використовуються для профілактики і лабораторної діагностики поліомієліту, Коксакі- та ЕСНО- інфекцій, ящура. Специфічна профілактика поліомієліту є плановою і проводиться згідно календаря щеплень. Перша вакцинація проводиться тричі, починаючи з 3-місячного віку з інтервалом в 45 діб. Ревакцинації здійснюють у віці 1,5 року, надалі в 3, 6 і 14 років. Існують 2 вакцини проти поліомієліту – жива атенуйована полівалентна для перорального застосування (вакцина Сейбіна) і інактивована полівалентна для парентерального застосування (вакцина Солка). Обидві вакцини застосовують в Україні. Вакцина Солка входить до складу таких комбінованих вакцин як „Тетракок”, „Інфанрикс”, „Інфанрикс ГепВ”.

Специфічна профілактика сказу у людей є екстреною і проводиться тільки за епідеміологічними показаннями (укус скаженою твариною, укус дикими тваринами, які найчастіше хворіють на сказ). Для вакцинації людей застосовують інактивовану вакцину, отриману із культурального штаму вірусу сказу Внуково-32. Профілактика сказу у свійських тварин (собаки, кішки) і в деяких країнах у диких тварин проводять за допомогою живих пероральних або інактивованих парентеральних вакцин.

Підпис викладача _____

Дата _____

Заняття _____

Тема: Загальна характеристика збудників грипу, парагрипу. Лабораторна діагностика, культивування, лікування і профілактика.

Основні питання теми:

1. Загальна характеристика групи міксо- і параміксовірусів.
2. Морфологія, ультраструктура, хімічний склад і резистентність вірусів грипу.
3. Антигенна будова. Типи і різновидності збудників.
4. Культивування і репродукція вірусів.
5. Патогенез захворювання, імунітет при грипі.
6. Специфічна профілактика і лікування грипу.
7. Вірусологічна і серологічна діагностика грипової інфекції: а - експрес-діагностика; б - ранні методи діагностики; в - пізні методи діагностики.
8. Морфологія, ультраструктура, хімічний склад, біологічні властивості вірусів парагрипу. Антигенна будова, серологічні типи вірусів.
9. Епідеміологія збудників, патогенез захворювання.
10. Лабораторна діагностика парагрипу. Методи профілактики і лікування.

Грип - це гостре вірусне захворювання, яке може вражати людей, не залежно від їх віку чи статі, і яке супроводжується такими проявами як загальна інтоксикація організму, а також катаральними явищами у вигляді риніту, закладеності носа і сильного кашлю. Статистика свідчить про те, що кожного року в світі на грип хворіє близько 450 мільйонів людей, причому 2 мільйони з яких помирає. Небезпека грипу полягає в тому, що він може вражати серцево-судинну систему, дихальні органи, а також центральну нервову систему

людини. Вірус грипу досить сильно і різко знижує захисні сили організму, тому і ймовірність виникнення різних ускладнень після хвороби є дуже високою. Особливо небезпечний грип для літніх людей, дітей і вагітних жінок, а також для тих, хто має якісь хронічні захворювання. Перша згадка про грип як про хворобу було зроблена Гіппократом, а перше документальне підтвердження епідемії грипу зафіксовано в 1580 році. Найважчою епідемією грипу була так звана «іспанка», яка трапилася в 1918 році, і від цієї епідемії померло понад 20 мільйонів жителів планети.

Збудником захворювання є вірус грипу, який був ідентифікований англійськими вченими вірусологами в 1933 році. Через три роки після цього вченим вдалося провести виділення вірусу грипу В і С.

Від людини до людини вірус грипу передається дуже легко, найчастіше це відбувається повітряно-крапельним шляхом при кашлі, чханні або при розмові.

Грип починається досить інтенсивно і гостро. Інкубаційний період хвороби складає від двох до п'яти днів. Тяжкість протікання захворювання у людини залежить від багатьох факторів, у тому числі від її віку, загального стану здоров'я, фортеці імунітету. Основними симптомами захворювання є висока температура тіла, загальна слабкість, біль у суглобах і м'язах, головний біль, біль за грудиною, інтенсивний кашель, нежить, сухість слизової оболонки порожнини носа і глотки, а іноді болі в животі і діарея. При важкому перебігу грипу у хворого можуть спостерігатися судоми, галюцинації, блювота або кров з носа.

Джерелом інфекції є тільки хвора людина (з останніх годин інкубаційного періоду по 4-5-й день хвороби). Механізм передачі інфекції — повітряно-крапельний. Хвора людина, навіть із легкою формою грипу, становить небезпеку для оточуючих впродовж усього періоду прояву симптомів, що в середньому становить 7 діб. Імунітет після перенесеного грипу дуже нестійкий, можливі повторні захворювання навіть упродовж одного року; цьому сприяє те, що різні типи та підтипи, а також серологічні варіанти збудника не утворюють один проти одного пересічного імунітету та значно змінюють імуногенні властивості, що робить щеплення проти грипу досить неефективними.

Класифікація	<p>Будова вірусу грипу</p> <p>Віріон сферичної форми, діаметром 90-120 нм, складається з суперкапсиду, капсиду, генома і трьох поліпептидних білків. Ліпідний суперкапсид клітинного походження має на поверхні 3 види шипів: 1) гемаглютинін (H); 2) нейрамінідазу (N) і білок іонних каналів (M2). Внутрішня поверхня суперкапсиду утворена M2-білком (матричний, мембранний). Капсид спірального типу симетрії, складається з білка M1. Геном поданий 8 сегментами “-“ РНК. Кожен сегмент має вид замкнутого кільця.</p>
<i>Родина Orthomyxoviridae</i>	
<i>Рід Influenzavirus A</i>	
<i>Рід Influenzavirus B</i>	
<i>Рід Influenzavirus C</i>	
<i>Рід Thogovirus</i>	

Антигенна структура. Віруси грипу мають 4 антигени: 2 внутрішніх (білок NP і М-білок) і 2 поверхневих (гемаглютинін і нейрамінідазу). *Внутрішні антигени* є родоспецифічними і виявити їх можна в РЗК. *Поверхневі антигени* визначають вид вірусів грипу А і виявити їх можна в РГГА. Розрізняють 16 типів гемаглютининів. Віруси грипу людини можуть містити гемаглютинини Н1, Н2 або Н3, тоді як віруси птахів і тварин – від Н1 до Н16. Існує 9 різновидностей нейрамінідази. Віруси грипу людини мають тільки N1 або N2. Поверхневі білки – високо варіабельні в межах роду, що приводить до появи нових серологічних варіантів (видів) вірусу грипу А. *Зміни антигенної структури* можуть відбуватися двома шляхами – антигенним дрейфом або шифтом.

Антигенний дрейф – обумовлений крапковими мутаціями, які незначно змінюють

молекули поверхневих антигенів.

Антигенний шифт – обумовлює появу нового антигенного варіанта (виду) вірусу. Це радикальна зміна одного або двох поверхневих антигенів. Антигенний шифт є результатом генетичної рекомбінації між штамами вірусів грипу людини і тварин, що приводить до зміни типу нейрамінідази або гемаглютиніну.

Основні антигенні шифти вірусу грипу А: H1N1 (Іспанський грип), H2N2 (Азіатський грип), H3N2 (Грип Гонконг).

Специфічна профілактика і лікування грипу

Для вакцинопрофілактики застосовують такі типи грипозних вакцин:

1. Жива атенуйована грипозна вакцина (алантоїсна і культуральна)
2. Убита цільновіріонна грипозна вакцина
3. Субвіріонна грипозна вакцина
4. Субодинична грипозна вакцина, яка містить тільки гемаглютинін і нейрамінідазу.

Класифікація та особливості будови вірусів родини Paramyxoviridae

Підродина Paramyxovirinae	<i>Pið Respirivirus</i> Вірус парагрипу	Діаметр віріона 150-250 нм, суперкапсид містить гемаглютинін-нейрамінідазу і F білки, під ним розташований матриксний білок М. Нуклеокапсид побудований за спіральним типом і покриває лінійну негативну, несегментовану РНК.
	<i>Pið Morbillivirus</i> Вірус кору	Те ж саме, тільки відсутня нейрамінідаза
	<i>Pið Rubulavirus</i> Вірус епідемічного паротиту	Те ж саме, що й у віруса парагрипу
Підродина Pneumovirinae	1. Рід Pneumovirus Респіраторно-синцитіальний вірус	Те ж саме, що й у віруса парагрипу, але відсутні Гемаглютинін-нейрамінідаза

Практична робота

Завдання 1. Зараження курячих ембріонів змивом з носоглотки хворого з підозрою на грип. Замалювати будову курячого ембріону.

3. Патогенез захворювання та імунітет.
4. Методи ранньої та ретроспективної діагностики епідемічного паротиту.
5. Специфічна профілактика і лікування паротиту.
6. Морфологія, ультраструктура, _еспірат будова, біологічні властивості, репродукція вірусів кору.
7. Патогенез захворювання та імунітет при корі.
8. Лабораторна _еспіраторн кору.
9. Специфічна профілактика і лікування кору.
10. Епідеміологія, будова і біологічні властивості _еспіраторно-синцитіальних вірусів.
11. Патогенез, лабораторна діагностика , лікування і профілактика RS-інфекцій,

Паротит (лат. *parotitis*; походить від *glandula parotis* — привушна залоза + *itis* — запалення) — запалення привушної залози. Викликається вірусом, який входить до сімейства *Paramyxoviridae*, роду *Paramyxovirus*, який паразитує у клітинах епітелію слинних залоз. Він містить 8 структурних білків, зокрема, гемаглютинін, гемолізін та нейрамінідазу, а також не має антигенних варіантів (таких, як вірус грипу). Важливу роль у розвитку паротиту грає порушення відтоку слини, зниження загальної реактивності організму. Запалення привушної залози може перебігати гостро і хронічно.

Гострий паротит розвивається при запальних процесах порожнини рота (стоматитах, гінгівітах) ентеровірусної природи. Причиною запалення часто буває вірус епідемічного паротиту. Гострий бактеріальний паротит найчастіше виникає на тлі активізації мікрофлори, зазвичай присутньої в порожнині рота і протоках слинних залоз, що спостерігають переважно у ослаблених хворих, при тяжких інфекційних хворобах (зокрема при черевному тифі, епідемічному висипному тифі тощо), після оперативних втручань, особливо на органах черевної порожнини (частіше на 3-4-й день після операції), при травмах залози, впровадженні у привушний приплив чужорідного тіла. Одним з істотних чинників розвитку гострого запалення залози є зниження її секреторної функції.

Гострий паротит може перебігати в серозній, гнійній і гангренозній формі. При серозному паротиті спостерігають набряк, гіперемія і помірну лейкоцитарну інфільтрацію залозистої тканини, набрякання епітелію вивідних проток, в яких накопичується в'язкий секрет, що містить слущений епітелій і мікроорганізми. Початок захворювання характеризується припуханням залози, болем, що посилюється під час споживання їжі (симптом ретенції), погіршення самопочуття, підвищенням температури тіла. У ряді випадків, наприклад при паротиті обумовленому травмою або впровадженням в привушну протоку чужорідного тіла, цим симптомам може передувати період затримки слини, що супроводжується приступообразними болями в області слинної залози — колькою. При серозному паротиті пальпація залози малоболюча, колір шкіри над нею не змінено. Слизова оболонка, навколо гирла привушної протоки, гіперемована. Кількість слини незначна або вона зовсім відсутня, при масажуванні залози виділяється густий, в'язкий секрет. Прогрес процесу і розвиток гнійного запалення веде до посилення болю, наростання симптомів інтоксикації. Припухлість залози збільшується, набряк поширюється на сусідні області.

Лікування симптоматичне. Призначають за необхідності в залежності від причини паротиту антибактерійні, противірусні і імуностимулюючі препарати. ділянку навколоушних слинних залоз можна застосовувати сухе тепло. Для зниження високої температури тіла застосовують жарознижувальні препарати (ібупрофен, парацетамол). Іноді потребує лікування у щелепно-лицевого хірурга.

Кір відноситься до гострих вірусних інфекційних захворювань, характеризується поєднанням катаральної симптоматики зі специфічною екзантемою. Вірус корі РНК-, відноситься до роду *Morbillivirus*. У зовнішньому середовищі нестійкий, інактивується при

висушування, впливі сонячного світла, ультрафіолетового опромінення, при нагріванні до 50 ° С. Вірус здатний зберігатися в кімнатній температурі 1-2 дні, при охолодженні (температурний оптимум для збереження життєздатності: від -15 до -20 ° С) залишається активним кілька тижнів. **Резервуаром і джерелом інфекції є хвора людина.** Виділення інфекції починається в останні 1-2 дні інкубації, весь продромальний період і продовжується на протязі 4 днів періоду висипань.



У деяких випадках час контагіозності затягується до 10 днів з появи екзантеми. Безсимптомного носійства кору не відзначається.

Вірус корі передається по аерозольного механізму повітряно-крапельним шляхом. Хворий виділяє збудника в навколишнє середовище під час кашлю, чхання, просто при видиханні повітря і розмові. Мілкодисперсна суспензія розноситься з током повітря по приміщеннях. Зважаючи слабкої стійкості вірусу контактно-побутовий шлях передачі виключається. При зараженні кіром вагітної жінки можлива трансплацентарна передача інфекції. Люди край сприйнятливі до кору, після перенесення зберігається довічний напружений імунітет. Зазвичай захворювання виникає в дитячому віці, у дорослих кір зустрічається рідко і протікає помітно важче. Пік захворюваності припадає на зимово-весняний період, мінімальна кількість випадків реєструють у серпні-вересні. Захворюваність на кір значно знизилася останнім часом зважаючи проведення планової вакцинації населення.

Патогенез кору. Вірус проникає в організм через слизову оболонку верхніх дихальних шляхів, реплікується в клітинах їхніх покривного епітелію і поширюється по організму з током крові, накопичуючись в структурах ретикулоендотеліальної системи. Має тропність до покривних тканин (шкіра, кон'юнктива, слизові оболонки ротової порожнини та дихальних шляхів). У рідкісних випадках можливе ураження вірусом головного мозку з розвитком корового енцефаліту. Уражений вірусом епітелій слизової респіраторної системи іноді піддається некрозу, відкриваючи доступ для бактеріальної інфекції. Є думка, що збудник кору здатний довго зберігатися в організмі, викликаючи повільну інфекцію, що приводить до виникнення системних захворювань (склеродермії, системного червоного вовчака, розсіяного склерозу та ін.) Інкубаційний період кори триває 1-2 тижні, у випадках введення імуноглобуліну подовжується до 3-4 тижнів. Типове протягом кори відбувається з послідовною зміною трьох стадій: катаральної, висипань і реконвалесценції.

Катаральний період починається з підйому температури і розвитку ознак загальної інтоксикації. Лихоманка може досягати дуже високих цифр, хворі скаржаться на інтенсивний головний біль, безсоння, озноб, виражену слабкість. У дітей симптоматика інтоксикації значною мірою згладжена. На тлі інтоксикаційного синдрому в перші ж дні з'являється сухий кашель, відзначається слизово-гнійна ринорея, кон'юнктивіт (супроводжується інтенсивним набряком) з гнійним виділенням, світлобоязнь. У дітей виражена гіперемія зіву, зернистість задньої стінки глотки, обличчя одутле. У дорослих катаральні ознаки слабкіше виражені, але може мати місце регіонарний лімфаденіт (уражаються в основному шийні лімфовузли). Аускультация легенів відзначає жорстке дихання та сухі хрипи. Іноді захворювання супроводжується послабленням кишкової діяльності, диспепсичними симптомами (нудота, блювання, печія, відрижка).

Перша хвиля гарячки зазвичай складає 3-5 днів, після чого температура тіла знижується. На наступний день знову відбувається підйом температури і збільшення інтоксикації і катаральних явищ, а на слизовій оболонці щік відзначаються плями **Філатова-Коплика-Бельського** – специфічна клінічна ознака. Плями розташовуються на внутрішній поверхні щік проти малих корінних зубів (іноді переходимо на слизову ясен), являють собою трохи підняті над поверхнею білі ділянки (вид «манної каші»). Як правило, при появі висипу плями зникають, у дорослих можуть зберігатися протягом перших днів періоду висипань. Одночасно або трохи раніше, ніж плями Філатова-Коплика-Бельського, на м'яких і, частково, твердому піднебінні з'являється **енантема**, що представляє собою червоні плями неправильної форми. Після чого настає період висипання. **Висип при корі спочатку утворюється на волосистій частині голови і за вухами**, поширюється на обличчя і шию. До другого дня висипання покривають тулуб і плечі. На третю добу висип покриває кінцівки і починає бліднути на обличчі. Така послідовність висипань характерна для кору, є значимим для диференціальної діагностики ознакою. Корева висип являє собою яскравою плямисто-папульозне екзантему, схильну до формування зливних фігурних груп з проміжками незмінених шкірних покривів.

Діагностика. В більшості випадків діагноз ставиться на підставі характерної клінічної картини захворювання, підтверджується серологічними реакціями з виявленням антитіл (іммуно-ферментний аналіз (ІФА), реакція пасивної гемаглютинації (РПГА) і ін.).

Лікування. При неускладненому перебігу захворювання дітей лікують вдома, дорослих звичайно госпіталізують. Застосовують вітамінотерапію, при приєднанні ускладнень —антибіотики. Ослабленим хворим вводять протикоровий імуноглобулін. Лікування проти самого висипу немає. Спочатку тіло має покритись висипом повністю (стати однорідною червоною плямою), тоді висип пройдётиме. В жодному разі не слід розчісувати висип, щоб не утворились рани. Не можна простуджуватись чи переохолоджуватись під час висипу! Рекомендовано залишатись у ліжку декілька днів, доки не зійде висипка.

Практична робота

Завдання1. Ознайомитися з біологічними препаратами, що використовуються для діагностики і профілактики кору, епідемічного паротиту, парагрипозної та RS-інфекції та записати їх.

Підпис

викладача _____

Дата

ЗАНЯТТЯ №

ТЕМА: Арбовіруси. Лабораторна діагностика вірусних енцефалітів та геморагічних лихоманок.

Основні питання теми:

1. Вірус весняно-літнього енцефаліту. Загальна характеристика.
2. Епідеміологія, патогенез і клініка гарячки Ебола;
3. Лабораторна діагностика і профілактика кліщового енцефаліту.
4. Вірус лихоманки Ласа. Загальна характеристика.
5. Вірус лихоманки Марбурга. Загальна характеристика.
6. Епідеміологія японського енцефаліту, патогенез захворювання; методи лабораторної діагностики і профілактики захворювання.
7. Загальна характеристика родини *Bunyaviridae*
8. Вірус Кримської-Конго геморагічної лихоманки: Загальна характеристика.
9. Епідеміологія, клінічні прояви захворювання; методи лабораторної діагностики і профілактики хвороби.
10. Загальна характеристика збудників геморагічної гарячки з нирковим синдромом.
11. Епідеміологія, клінічні прояви захворювання; методи лабораторної діагностики і профілактики хвороби.
12. Загальна характеристика родини *Togaviridae*. Віруси червоної висипки.
13. Епідеміологія, клінічні прояви лихоманки Денге, Марбурга, Ебола.
14. Методи лабораторної діагностики і профілактики лихоманок.

Арбовіруси — еколого епідеміологічна група РНК-вірусів з 5-ти родин *Bunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae*, *Togaviridae* і *Asfarviridae*, які переносять членистоногі (кліщі, комарі).

Термін «віруси, що передають членистоногі» було впроваджено у медичний вжиток 1942 року, але 1963 року Міжнародний підкомітет з номенклатури вірусів змінив їхню назву на сучасну — «арбовіруси».

Арбовіруси спричиняють захворювання людей і тварин (арбовірусні хвороби) з різними клінічними проявами:

- з переважанням гарячки і висипу (часто їх називають геморагічні гарячки) — наприклад, жовта гарячка, гарячка денге, Крим-Конго геморагічна гарячка);
- з переважанням енцефаліту — наприклад, кліщовий енцефаліт, японський енцефаліт;
- з поєднанням цих уражень — гарячка Західного Нілу тощо.

На сьогодні виявлено більше 120 вірусів, що спричиняють хвороби в людини, а загалом до цієї еколого-епідеміологічної групи належать більше 500 відкритих вірусів, що передаються поміж тваринами.

Хвороба, яку спричинює вірус Марбург — гостра вірусна природно-осередкова хвороба, яка характеризується тяжким перебігом, генералізованим ураженням кровеносних судин з розвитком тяжкого геморагічного синдрому, ураженням печінки, травної системи, ЦНС і часто закінчується летально.

Гарячка Марбург входить до тих хвороб, які виявили здатність чинити серйозний

вплив на здоров'я населення і можуть швидко поширюватися в міжнародних масштабах та увійшли до переліку подій, які можуть являти надзвичайну ситуацію в галузі охорони здоров'я й потрапляють під регуляцію сучасними Міжнародними медико-санітарними правилами (ММСП) 2005 року.

Збудника цієї хвороби віднесено до тих біологічних агентів, які офіційно визнано чинниками біологічної зброї.

Основне первинне джерело інфекції — це плодоїдні печерні кажани, зокрема єгипетський фруктовий (*Rousettus aegypti* з сімейства *Pteropodidae*), у них були знайдені антитіла до вірусу Марбург, а в 2009 р. виділено й обидва підвиди вірусу Марбург від здорового кажана. Нині встановлено, що кажани не хворіють на гарячку Марбург з виразними проявами. Церкопитекові мавпи, як і люди, вважаються вторинними джерелами збудника. В експерименті чутливі до вірусу свійські свині, морські свинки, вивчено розмноження вірусу в організмі комара *Aedes aegypti*.

Механізм і шляхи передачі. Люди часто занедужували після тривалого огляду печер або праці у рудниках. При первинному зараженні від кажанів реалізується контактний механізм передачі інфекції — відбувається потрапляння їхніх свіжих чи висушених екскрементів на мікропошкодження шкіри, слизових оболонок у людей.

У цьому випадку вірус також передається також контактно від хворих людей (мавп) до здорових через мікропошкодження шкіри і слизових (порожнини рота, очей) внаслідок попадання на них інфікованої крові, сечі, виділень з носоглотки. Для передачі вірусу від людини людині необхідний тісний контакт з хворою людиною. Інфікування може реалізуватися й внаслідок контакту і з іншими людськими секретами (фекаліями, блювотними масами, сечею, слиною та мокротинням) з високою концентрацією вірусів, особливо якщо в цих рідинах є домішка крові. Передача вірусу може відбуватися також статевим шляхом через інфіковану сперму — вірус був виявлений в ній навіть через сім тижнів після клінічного одужання хворого.

Інфікування відбувається при потраплянні вірусу в ротову порожнину або на кон'юнктиву, що відбувається при контакті з кажанами, інфікованими тваринами чи хворою людиною. Медичний персонал заражається під час роботи з хворими при порізах або уколах, коли попадає матеріал (кров, секційний матеріал), що містить вірус. Гематогенним шляхом вірус розноситься в різні органи і тканини, розмножується у багатьох паренхіматозних органах — зокрема печінці, селезінці, легенях, ймовірно в надниркових залозах і кістковому мозку. Патологічні зміни в цих органах є наслідком прямої ушкоджучої дії вірусу. Із організму збудник виділяється із секретом з носоглотки і очей, з сечею, спермою. Гістологічні зміни в печінці відбуваються у вигляді фокальних некрозів з утворенням еозинофільних тілець і невеликі овальні і серповидні базофільні включення у всіх тканинах, в тому числі міокарді, легенях, селезінці. Постійно виявляється тромбоцитопенія, зниження рівня ряду факторів згортання в плазмі крові (II, V, VII, VIII і X), ураження стінок кровоносних судин, значне підвищення їхньої проникності. При гарячці Марбург в процес втягується ЦНС, виявляються застійні явища в судинах мозку, набряк і гіперемія м'якої оболони, гліальні вузликіві пошкодження в сірій і білій речовині і навіть у деяких корінцях спінальних нервів. Зміни в ЦНС бувають настільки значні, що можуть стати причиною смерті хворого, а виникаючі при цьому клінічні прояви відповідають енцефаліту.

Хвороба, яку спричинює вірус Ебола (гарячка Ебола, геморагічна гарячка Ебола, англ. *Ebola fever*, лат. *febris Ebola*^[4]) — гостра вірусна висококонтагіозна природно-осередкова хвороба, яка характеризується частим тяжким перебігом, високою летальністю, вираженою інтоксикацією, зневодненням, ураженням кровоносних судин багатьох органів з розвитком тяжкого геморагічного синдрому.

Вона входить до переліку хвороб, які здатні серйозно впливати на здоров'я населення і можуть швидко поширюватися в міжнародних масштабах. Крім того, хвороба, яку

спричинює вірус Ебола, увійшла до переліку подій, які можуть являти надзвичайну ситуацію в галузі охорони здоров'я, та які регулюють сучасні Міжнародні медико-санітарні правила 2005 року. Збудника хвороби внесено до чинників біологічної зброї у переліку «Біологічних агентів, які цитують під різними назвами, як зброю для ураження живої сили»

Спалах гарячки Ебола 2014 року у ДР Конго.

27 серпня 2014 року ВООЗ сповістила, що у Демократичній Республіці Конго з 28 липня по 17 серпня 2014 року виявлено 24 випадки, підозрілі на гарячку Ебола, зокрема зафіксовано 13 смертей. Перший випадок був зафіксований у вагітної, яка мала контакт з м'ясом забитої під час полювання дикої тварини, яку привіз її чоловік. Під час оперативного втручання, яке було ургентно проведено цій жінці, від неї відбулось зараження декількох медичних працівників (один лікар й дві медичні сестри). Сама вагітна згодом померла. А далі захворіли й померли ще люди, як в лікарні, так й за її межами. Спалах, який абсолютно не пов'язаний спільними векторами передачі з епідемією, яка відбулась того ж року у Гвінеї, Сьєрра-Леоне, Ліберії, Нігерії та Сенегалі, трактується ВООЗ як окрема епідемія хвороби, яку спричинює вірус Ебола. Усі випадки відбулись в окрузі Джіра

Епідемія гарячки Ебола в Західній Африці 2014—2016 років

У 2014—2016 роках зафіксована найтяжча за весь період спостережень за цією хворобою епідемія в Західній Африці (Гвінея, Сьєрра-Леоне, Ліберія, Нігерія, Сенегал, Малі). Епідемія поширилась за межі цього регіону до США, Іспанії, Великої Британії. Ніколи раніше в історії людства патоген четвертого рівня патогенності, при якому проводяться заходи четвертого рівня біобезпеки, не заразив настільки багато людей так швидко, в такому великому географічному районі, й епідемія тривала би настільки довго.

Збудники гарячки Ебола — РНК-вмісні віруси, що належать до роду *Ebola virus*, родини *Filoviridae*. У цю родину входить ще вірус Марбург, який також у ХХ ст. спричинив низку резонансних епідемій). У складі вірусу Ебола є глікопротеїн, який може виявлятися у розчинній формі і спричиняти різке підвищення проникності, судинні масивні кровотечі. Вірус має п'ять різних видів: Заїр, Судан, Таї Форест (раніше — Кот-д'Івуар), Бундібуджо і Рестон. У людини клінічно виразні прояви хвороби зумовлюють тільки перші 4 з них. Для виду Рестон характерний безсимптомний перебіг у людей, у них виявляють антитіла до цього підтипу і, на сьогоднішній день, серйозних захворювань або випадків смерті у людей не зареєстровано. Великі спалахи геморагічної гарячки Ебола в Африці з високою летальністю (до 90 %) спричиняють види Заїр, Судан і Бундібуджо. Вид Заїр породив останню найтяжчу епідемію 2014—2015 рр., яка триває й досі в Західній Африці.



Вірус Ебола передається при прямому контакті з кров'ю, виділеннями, органами або іншими рідинами організму інфікованої людини, тобто реалізується контактний механізм передачі інфекції, який має різні шляхи реалізації. Мисливці часто заражаються при білуванні кажанів, мавп, інших заражених тварин, а потім передають інфекцію іншим людям. Похоронні обряди, під час яких присутні люди мають прямий контакт з тілом померлого, відіграють значну роль у подальшому поширенні вірусу Ебола серед людей. Працівники охорони здоров'я часто інфікуються вірусом Ебола під час догляду за пацієнтами унаслідок тісних контактів за відсутності відповідних заходів інфекційного контролю і належних бар'єрних методів захисту. Використання контамінованих (забруднених/незаражених) інструментів, приладів тощо у медичному закладі може приводити до зараження інших пацієнтів (не з гарячкою Ебола) — реалізується гемоконтактний механізм з ятрогенною (обумовленою медичним втручанням)

передачею. Вірус Ебола виявляють у багатьох рідинах (крові, випорожненнях, сечі, слині, виділеннях із носоглотки, спермі тощо), що обумовлює інтенсивний штучний (артифіціальний) контактнo-побутовий шлях зараження (через випадкове порушення цілісності шкіри, слизових оболонок). Описано й статевий шлях зараження, якому на сьогодні приділяють серйозну увагу. На сьогодні встановлено, що у спермі тих людей, що видужали від хвороби, вірус знаходили щонайменше через 9 місяців від початку хвороби. Є припущення, що цей термін більш тривалий. Припускають, що така тривала персистенція вірусу відбувається у рідині, яка омиває око, у центральній нервовій системі (ЦНС), грудному молоці тощо. Існує можливість випадкового потрапляння виділень від хворих людей до слизових носа, ротоглотки, очей здорових, які не були закриті масками чи захисними окулярами. В цьому випадку теж реалізується безпосередньо контактний механізм передачі інфекції. На сьогодні ВООЗ заперечує можливість повітряно-крапельної передачі (іноді це ототожнюють із безконтактним передаванням, що не є правильним). Є певні відомості про штучний повітряно-крапельний механізм зараження. Так, канадським вченим вдалося зафіксувати таку передачу вірусу від свиней до мавп у лабораторних умовах, але це стосується лише виду Рестон, який не є патогенним для людей, зараження відбулося у штучних умовах, але не в природі — тому ВООЗ не акцентує увагу на цьому і не вимагає посилення відповідних запобіжних протиепідемічних заходів, наприклад, використання ізолюючих дихальних апаратів тощо. Гарячка Ебола також не поширюється через їжу, воду, трансмісивно (тобто, через укуси комах). Для гарячки Ебола характерний гострий початок із симптомів вираженої інтоксикації, швидке підвищення температури до 38-39 °С тривалістю 5-7 днів, сильний головний біль, біль у суглобах та м'язах. Дещо пізніше з'являється сухий кашель, сухість і пирхота в горлі, колючий біль у грудній клітці. На 2-й день хвороби з'являється біль у животі, нудота, пронос, в результаті чого можливий розвиток дегідратації. В окремих випадках може з'являтися плямисто-папульозний висип на 4-5-й день хвороби — спочатку на обличчі, потім на шкірі грудної клітки, здатний поширюватися й на інші частини тіла. Висип зберігається до 10-14-го дня хвороби, супроводжується лущенням шкіри, яке також спостерігають на долонях, підшвах. Характерний зовнішній вигляд хворого — гіперемія кон'юнктиви, глибоко запалі очі, нерухоме обличчя, загальмованість.

На сьогодні ВООЗ рекомендує проведення для специфічної діагностики таких методів:

- ІФА (ELISA) з виявленням IgM;
- тести виявлення антигену (англ. *antigen-capture detection tests*), які теж проводять в ІФА (ELISA);
- реакція нейтралізації;
- ПЛР з використанням зворотної транскриптази (RT-PCR);
- електронна мікроскопія;
- виділення вірусу на клітинній культурі^[71].

Жовта гарячка — гостра арбовірусна природно-осередкова хвороба з групи геморагічних гарячок, що характеризується раптовим початком, двофазною високою гарячкою, різко вираженою загальною інтоксикацією, тромбогеморагічним синдромом, ураженням печінки з появою жовтяниці, ушкодженням нирок й інших органів. Жовту гарячку відносять до тих інфекційних хвороб, що виявили здатність спричинити серйозний вплив на здоров'я населення та швидко поширюватися в міжнародних масштабах. Згідно з Міжнародними медико-санітарними правилами 2005 року жовта гарячка підлягає регуляції цими правилами, про кожний випадок її слід негайно сповіщати ВООЗ.

Вірус жовтої гарячки віднесено до тих біологічних агентів, які офіційно визнано чинниками біологічної зброї.

Кліщовий енцефаліт - це природно-вогнищеве гостре інфекційне вірусне захворювання з переважним ураженням центральної нервової системи (ЦНС), яке може привести до інвалідності, а в окремих випадках — аж до смерті. Входить до групи арбовірусних хвороб. Це захворювання є ендемічним для регіонів, де поширені

основні переносники — кліщі *Ixodes ricinus* та *Ixodes persulcatus*. У природних вогнищах вірус кліщового вірусного енцефаліту (КВЕ) циркулює за ланцюгом: кліщі — дикі хребетні — кліщі. Вірус кліщового енцефаліту зберігається та розмножується в організмі переносника — іксодового кліща на всіх стадіях його розвитку. За результатами досліджень, в одному кліщі вміщується до 10 мільярдів вірусних частин.

Віруси весняно-літнього енцефаліту мають 3 антигенних варіанти (підвиди) – західний, східний і збудник двохвильового менінгоенцефаліту.

Клінічні ознаки. Інкубаційний період (від зараження до перших клінічних проявів хвороби) триває, в середньому, 7-14 днів, з коливаннями від однієї до 30 діб. Ранніми проявами хвороби є головний біль, що зростає за своєю інтенсивністю, підвищення температури до 38-39 °С, нудота, блювання, безсоння, рідше — сонливість, запаморочення, турбують болі в м'язах шиї, спини, кінцівок. Хворі є млявими, адинамічними, у них помітна гіперемія зіву, шкіри обличчя, ін'єкція судин склер і кон'юнктив. У місці присмоктування кліща може з'явитися еритема. Надалі відмічають симптоми ураження центральної нервової, серцево-судинної, дихальної систем. У 30 % осіб, що захворіли, розвиваються клінічні симптоми хвороби, які прогресують до менінгіту (45 %), менінгоенцефаліту (42 %), енцефаломієліторадикуліту (14 %). Тяжкість перебігу залежить від віку хворого — вірогідність значного ураження головного мозку різко підвищується з 40 років, у віці старше 60 років реєструють максимальну летальність.

Ускладнення кліщового енцефаліту відмічаються у 30-80 % перехворілих клінічно вираженою формою та представлені в'ялими паралічами переважно верхніх кінцівок. Рідше зустрічаються нетипові варіанти захворювання — стерті, грипopodobні форми; поліомієлітоподобні форми. Можливо тривале хронічне носійство вірусу.

Гарячка Ласса — гостра висококонтагіозна зоонозна природньо-осередкова хвороба, яка характеризується в типових випадках гарячкою, тромбогеморагічним синдромом, виразковим стоматитом і фарингітом, міокардитом, ураженням органів дихання, печінки, нирок, судинної і центральної нервової системи (ЦНС), нерідко — тяжким перебігом з досить високою летальністю. Разом з тим високий відсоток людей у певних ендемічних регіонах, що мають у себе високі титри антитіл до вірусу, і раніше не мали ознак цієї хвороби або мали легкі прояви гарячки без геморагічного синдрому, дало право вченим констатувати, що хворобу не слід називати геморагічною гарячкою Ласса, адже це лише частка в клінічному перебігу цього захворювання.

Хворобу відносять до групи висококонтагіозних вірусних геморагічних гарячок. Гарячка Ласса входить до групи тих хвороб, що виявили здатність чинити серйозний вплив на здоров'я населення і можуть швидко поширюватися в міжнародних масштабах та увійшли до переліку подій, які можуть являти надзвичайну ситуацію в галузі охорони здоров'я й попадають під регуляцію сучасними Міжнародними медико-санітарними правилами 2005 року.

Збудника гарячки Ласса внесено до переліку біологічних агентів, які офіційно визнано чинниками біологічної зброї.

Віруси геморагічної лихоманки з нирковим синдромом.

Геморагічна гарячка з нирковим синдромом (основні синоніми: *геморагічний нефрозонефрит, далекосхідна геморагічна гарячка, корейська геморагічна гарячка, епідемічна нефропатія*) — гостра **вірусна** природньо-осередкова хвороба, що характеризується **гарячкою**, загальною інтоксикацією, своєрідним ураженням нирок, розвитком гострої ниркової недостатності та тромбогеморагічного синдрому.

Хвороба нині реєструється на Далекому Сході (Японія, Корейський півострів, Китай, далекосхідна Росія), Північній Азії (Уральські та Сибірські регіони Росії), Східній та Північній Європі (Росія до Уралу, Білорусь, Україна, країни Прибалтики, Фінляндія, Швеція, Норвегія, Данія, Бельгія, Франція), Балканському регіоні, США. У Китаї щорічно з

2015 року реєструють до 250 тисяч випадків цієї хвороби. Серед усіх країн Китай є найбільш постраждалим від цієї хвороби, на нього припадає понад 90 % від загальної кількості випадків в усьому світі. Упродовж 1950—2014 років у Китаї було зареєстровано 1625002 випадків та 46 968 смертей, із летальністю 2,89 %. Тяжкість перебігу хвороби в Європі та Азії змінюється в широких межах (від легких до тяжких форм), що пов'язано з неоднорідністю популяції вірусів та їхніми різними патогенними властивостями. Летальність досягає 15 %, переважно при ураженнях, які спричинює вірус *Hantaan*. У північній Європі, в основному в Швеції та Фінляндії, рівень летальності становить 0,1–1 %. В Україні подібні захворювання трапляються практично по всій природній території, але найбільша кількість припадає на північно- та південно-східні райони. Реєструються як спорадичні випадки з переважно доброякісним перебігом, але, ймовірно, реальна захворюваність значно вище і не враховується офіційною статистикою в зв'язку з тим, що лабораторії недостатньо забезпечені діагностичними тест-системами, через що верифікація діагнозу в ряді випадків неможлива. Наразі збудники хвороби відносяться до родини *Bunyaviridae* і виділені в окремий рід, який включає 23 види вірусів. Для людини патогенними по цій хворобі вважають азійські (корейська геморагічна гарячка) *Hantaan*, *Amur* та *Seoul* і європейські віруси (епідемічна нефропатія) *Puumala*, *Dobrava-Belgrade* та *Saaremaa*. Віруси цього роду — сферичні, РНК-вмісні. Глікопротеїни G-1 і G-2, що входять до складу оболонки, сприяють проникненню вірусу в клітину, стимулюють розвиток в організмі реакцій нейтралізації і гемаглютинації вірусів. Окрім РНК-залежної РНК-полімерази вірусами кодується ще нуклеокапсидний білок, що безпосередньо контактує з вірусним геномом. Цей білок є єдиним антигеном, що безпосередньо використовується у практичній серологічній діагностиці хантавірусних захворювань.

Джерелами геморагічної гарячки з нирковим синдромом є різні дикі мишоподібні гризуни, зрідка щури. Віруси, що спричинюють цю геморагічну гарячку, різні за своєю вірулентністю.

- Найтяжчі захворювання у людей спричиняє вірус *Hantaan*, що циркулює в природних осередках Далекого Сходу: Японії, Китаю, Росії, Корейському півострові. Основним джерелом цього вірусу є смугаста польова миша. У гризунів захворювання перебігає безсимптомно після інфікування, оскільки хантавіруси розробили різні механізми спротиву імунній системі під час тривалої спільної еволюції з цими хазяями.
- На Корейському півострові циркулює вірус *Seoul*, джерелом якого є сірі (*Rattus norvegicus*) та чорні (*Rattus rattus*) пацюки, які наявні в багатьох портових містах світу, що не виключає можливості розвитку там геморагічної гарячки з нирковим синдромом. Декілька таких випадків було описано в США. За тяжкістю проявів займає середню позицію між *Hantaan* та *Puumala*.
- Вірус *Amur* циркулює на Далекому Сході.
- *Puumala* виявлений у Фінляндії, Швеції, Бельгії, Франції, Росії, Білорусі та Україні. Джерелом його являється руда європейська полівка. Спричинює захворювання з доброякісним перебігом, що називалася раніше епідемічною нефропатією
- Вірус *Dobrava-Belgrade* поширений у країнах Балканського півострова: Болгарія, Македонія, Чорногорія, Сербія, Греція; джерелом його встановлена жовтошия миша, за тяжкістю перебігу трохи поступається вірусу *Hantaan*.
- Вірус *Saaremaa* був виділений досить недавно, його джерело — польова миша, а поширений цей вірус у Прибалтиці, північній Росії, Скандинавії, за перебігом подібний до епідемічної нефропатії *Puumala*. У гризунів ця інфекція виявляється у вигляді латентного вірусноносійства. Збудник виділяється з калом, сечею. Передача між гризунами здійснюється в основному через дихальні шляхи.

Зараження людини відбувається контактним механізмом, повітряно-пиловим шляхом, при вдиханні сухих випорожнень інфікованих гризунів, потраплянні їх на пошкоджену

шкіру та мікроураження слизових ока, носо- й ротоглотки, можливо — нижчих дихальних шляхів. Передача вірусу можлива також при безпосередньому зіткненні з гризунами (роботи з зоологічним матеріалом, укусу пацюків) або інфікованими об'єктами довкілля (хмиз, солома, сіно тощо), що були заражені виділеннями мишоподібних гризунів. Допускається можливість зараження людини при вживанні продуктів, які не піддавалися термічній обробці (капуста, морква тощо) і були забруднені гризунами. Передачі інфекції від людини до людини не зафіксовано.

Патогенез. Хвороба вважається одним із типів синдрому системної запальної відповіді, а патофізіологічні прояви гіпотензивної стадії нагадують такі при типовому дистрибутивному шоці. Вхідними воротами інфекції є пошкоджена (навіть мінімально) слизова оболонка носа, ока, ротоглотки, ймовірно, гортані та трахеї, та, рідше, шкіра. На місці воріт інфекції змін не спостерігається. Патогенез значною мірою ще не прояснений, але вважають, що імунні механізми відіграють важливу роль. Після зараження відмічена продукція цитокінів, калікреїн-кінінів, активація природних Т-кілерів, комплементного шляху та підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів. Надмірне виробництво запальних цитокінів виявлено у цих хворих, що дало підставу вважати, що так званий «цитокіновий шторм» може відігравати ключову роль у патогенезі захворювання. У хворих виявлено збільшення рівня TNF- α , IL6, IFN- γ , IL8, IP10. Виявлено, що цитокіни продукують різні клітини (макрофаги, моноцити і лімфоцити) у відповідь на прозапальні сигнали. Ці компоненти відіграють важливу роль під час гарячкової і гіпотензивної стадії. У гострій фазі тяжкість захворювання змінюється відповідно до рівня активації комплементу. Усі вищевказані фактори спричинюють пошкодження ендотелію кровноносних капілярів, яке є клінічно значущими особливостями захворювання. Хвороба починається гостро — з ознобу швидкого підвищення температури до 39,5-40,5 °C, на цій позначці температура зберігається упродовж 3-7 днів, після чого дещо знижується. Основні скарги хворого — відчуття жару у всьому тілі, виснаження, біль у м'язах живота та попереку. Обличчя і шия гіперемійовані та одутлі — симптом каптура. З 3-5-го дня хвороби симптоми зростають, розвивається геморагічний синдром. Порушення з боку нирок з'являються на 3-4 дні пізніше, але іноді відмічається їхнє ураження раніше (на 2-4-й день хвороби). Добова кількість сечі при цьому значно зменшується (олігурія) до тимчасового повного припинення її виділення (анурія). У значної частини хворих розвивається геморагічний синдром (петехіальний висип, крововиливи у склеру, носові кровотечі), рідше спостерігається кров у сечі та ще рідше — кишкові кровотечі. Порушується згортання крові, виникає внутрішньосудинне згортання крові у капілярах. При європейському варіанті хвороби виражені прояви геморагічного синдрому відмічаються не більш ніж у 17-20 % хворих.

Лабораторна діагностика. Вірусологічне виділення вірусу в широкій практиці не проводиться. Виявити сліди вірусу в крові можливо за допомогою імуногістохімічного дослідження (ІГХ) та ПЛР. Підтвердити діагноз також можна виявленням антитіл класу IgM за допомогою ІФА вже на ранніх стадіях хвороби або чотирикратного (і вище) наростання титрів у РІАГА. Використовують метод колоїдного золота.

Безпечний, швидкий і специфічний метод серотипування для діагностики був розроблений з використанням рекомбінантного нуклеокапсидного білка хантавірусу (NP) як антигену. Антитіла IgM у високих рівнях проти всіх трьох структурних білків хантавірусу виявляються одночасно з появою клінічних ознак. Сироваткові рівні IgM досягають максимуму 7–11 днів після початкових симптомів. У фазі реконвалесценції рівні IgM зазвичай знижуються, в той час як рівні IgG зростають. Тому це часто використовують у діагностиці хвороби. Було продемонстровано, що виявлення специфічних IgM антитіл у клінічних зразках є чітким показником хантавірусної інфекції.

Специфічна профілактика до кінця не розроблена, хоча існують деякі вакцини проти вірусу *Hantaan*. Неспецифічна профілактика зводиться до знищення гризунів в осередках хвороби і до захисту людей від контакту з гризунами або предметами, забрудненими їх

Віруси гепатитів. Класифікація. Родини пікорнавірусів (рід гепатовірус - вірус гепатиту А (епідемічний гепатит), гепаднавірусів (рід ортогепаднавірус - вірус гепатиту В (сироватковий гепатит), флавівірусів (рід гепацівірус - вірус гепатиту С, вірус гепатиту G), аденовірусів (рід аденовірус - вірус гепатиту F (з імунодефіцитом), некласифікованих вірусів (рід дельта вірус - вірус гепатиту D), рід гепатиту Е-подібні віруси (вірус гепатиту Е, ТТ-вірус, SEN-вірус).

Вірус гепатиту А. Будова віріону: простий, 27-32 нм, РНК-геном, має рецептори до ентероцитів тонкої кишки, лімфатичного апарату кишечника, гепатоцитів.

Антигенна будова: виділяють 1 тип за НАV-Ag.

Резистентність: чутливий до дії УФ променів, стійкий до низьких температур, високих температур (гине при 100°C через 5 хв.), дії ефіру, дезінфектантів (у 2,5 мг/л хлору гине через 15 хв.), добре зберігається в зовнішньому середовищі (у воді).

Культивування вірусу здійснюють в культурі клітин нирок зелених мавп, в культурі клітин гепатоцитів мишей, але ЦПД слабо виражена.

Джерелом інфекції є хвора людина та вірусоносій. Вірус первинно репродукується в епітелії тонкого кишечника, лімфатичних клітинах ШКТ, потрапляє в кров, повторна репродукція відбувається в гепатоцитах, що призводить до їх загибелі. Цитопатичний ефект підсилюється натуральними кілерами, активованими інтерфероном, сенсibiliзованими Т-кілерами, антитілоопосередкованим цитолізом.

Імунітет тривалий, напружений.

Матеріал для дослідження: фекалії, сироватка крові. Виявлення вірусів проводять за допомогою ІЕМ. Виявлення НАAg проводять за допомогою ІФА, РІА. Виявлення антитіл: Ig M (в гострій фазі), Ig G (після перенесеного гепатиту). Виявлення генів вірусу гепатиту А проводять за допомогою ЛПР.

Профілактика: неспецифічна - виявлення і санація джерел інфекції, розрив механізмів передачі, використання індукторів інтерферону; специфічна - введення донорського г-глобуліну людини, вакцинація інактивованою або живою атенуваною або рекомбінантною вакцинами (імунітет 3-6 років).

Вірус гепатиту В. Будова віріону: складний, 42-45 нм, ДНК-геном, має рецептори до б-протеїну мембрани гепатоцитів.

Антигенна будова: HBs – глікопротеїн+ліпід суперкапсиду, виявляється в сироватці крові, HBc – нуклеопротеїн, міститься в капсиді віріонів, що знаходяться в ядрах гепатоцитів, не надходить в кров, HBe – відщеплюється від HBc-Ag при проходженні вірусу через мембрану гепатоцита, виявляється в сироватці крові, HBx – регуляторний білок, бере участь в пухлинній трансформації гепатоцитів. Антитіла виробляються до HBs, HBc, HBe антигенів.

Резистентність: чутливий до глютаральдегіду, детергентів, ефіру, формальдегіду, стійкий до низьких температур (-20°C – консервуюча температура), високих температур (гине при автоклавуванні), УФ променів.

Культивування здійснюють в первинній культурі клітин гепатоцитів ембріона і дорослої людини, але ЦПД слабо виражена.

Джерелом інфекції є хвора людина та вірусоносій. Зараження реалізується статевим, парентеральним, трансплацентарним, трансплантаційним шляхами. Первинна репродукція відбувається в гепатоцитах. Ураження печінки проходить не за рахунок ЦПД, а під дією натуральних кілерів, Т-кілерів, антитілоопосередкованого цитолізу. При циклічному перебігу (виведення вірусу) імунітет стерильний, довічний. При ациклічному перебігу (вірус інтегрується в геном гепатоцита і не виводиться) імунітет нестерильний, має місце репродукція вірусу гепатиту В.

Матеріал для дослідження: кров, сироватка крові. Виявлення вірусів здійснюють в ІЕМ, РІФ. Виявлення HBsAg, HBcAg, HBeAg – в ІФА, РІА. Виявлення генетичного матеріалу – в ЛПР. Виявлення антитіл до HBsAg, HBcAg, HBeAg – в РНГА, ІФА, РІА (продромальний період – виявлення HBcAT, гострий період – виявлення HBeAT, перед реконвалісценцією і при тривалому перебігу - виявлення HBsAT).

Профілактика: неспецифічна - виявлення і санація джерел інфекції, розрив механізмів передачі, специфічна - вакцинація генноінженерною вакциною (містить HBsAg) новонароджених з ревакцинаціями в 2 міс. і 7-8 міс., введення специфічного г-глобуліну.

Лікування: використання противірусних ХТЗ-інгібіторів ДНК-полімерази (ламівудин), інтерферону та його індукторів, специфічного г-глобуліну.

Вид вірусу	Особливості будови	Епідеміологія
Вірус гепатиту А (HAV)	Віріон діаметром 27-32 нм має типову будову для пікорнавірусів. Капсид ікосаедральної симетрії має 60 капсомерів, містить “+” РНК.	Джерело інфекції – хворі на гострі форми гепатиту і вірусоносії. Механізм передачі: фекально-оральний, який реалізується водним, харчовим і контактано-побутовим шляхами.
Вірус гепатиту В (HBV)	Віріон сферичної форми, діаметром 45 нм, має суперкапсид, капсид ікосаедрального типу, складається з 240 капсомерів і містить кільцеву двохниткову ДНК, одна нитка з розривом, є ДНК-полімераза. У складі вірусу 4 антигени: HB _s , HB _c , HB _e , HB _x	Джерело інфекції є хворі на гострі і хронічні форми гепатиту В, цироз і первинну карциному печінки. Механізм передачі: перкутанний, який реалізується статевим, парентеральним, трансплантаційним, трансплацентарним шляхами..
Вірус гепатиту С (HCV)	Віріон сферичної форми, діаметром 50 нм, має суперкапсид, У капсиді міститься одониткова несеgmentована лінійна “+” РНК.	Джерело інфекції – хвора людина і вірусоносій. Механізм передачі: перкутанний, який реалізується статевим, парентеральним, трансплантаційним, трансплацентарним шляхами.
Вірус гепатиту D (HDV)	Віріон сферичної форми, діаметром 36 нм, суперкапсид складається з HB _s антигену вірусу гепатиту В. У капсиді міститься одониткова несеgmentована кільцева “+” РНК. Репродукція вірусу відбувається при участі ВГВ	Джерело інфекції – хвора людина і вірусоносій. Механізм передачі: перкутанний, який реалізується статевим, парентеральним, трансплантаційним, трансплацентарним шляхами.
Вірус гепатиту Е (HEV)	Віріон сферичної форми, діаметром 32 нм, суперкапсид відсутній. Капсид іко-саедрального типу, має вдавлення і шипи. Генوم представлений одонитковою несеgmentованою лінійною “+” РНК	Джерело інфекції є хворі і вірусоносій. Механізм передачі - фекально-оральний, який реалізується переважно водним, рідше – харчовим і контактано-побутовим шляхами.
Вірус гепатиту G (HGV)	Віріон сферичної форми, має супер-капсид, Капсид ікосаедрального типу Геном представлений одонитковою несеgmentованою лінійною “+” РНК	Джерело інфекції є хворі на гострий і хронічний гепатит G. Механізм передачі: перкутанний, який реалізується статевим, парентеральним, трансплантаційним, трансплацентарним шляхами.

Дата _____

Заняття _____

Тема :Лабораторна діагностика лікування і профілактика СНІДу.

Основні питання теми:

1. Збудники СНІДу. Таксономія вірусів імунодефіцитів.
2. Структура та хімічний склад ВІЛ.
3. Антигенна будова ВІЛ.
4. Культивування та репродукція ВІЛ.
5. Патогенез СНІДу, особливості імунологічних порушень.
6. Епідеміологія СНІДу.
7. Методи лабораторної діагностики.
8. Перспективи профілактики і хіміотерапії захворювання.

Класифікація родини *Retroviridae*

Gammaretrovirus – вірус Т-клітинної лейкемії людини I типу

Deltaretrovirus – вірус Т-клітинної лейкемії людини II типу

Lentivirus – вірус імунодефіциту людини I типу (ВІЛ-I)

вірус імунодефіциту людини II типу (ВІЛ-II)

Sputavirus – спумавіруси людини

Будова вірусу імунодефіциту людини

Вірус імунодефіциту. Таксономія: Родина *Retroviridae* (рід *Lentivirus*).

Будова віріону: складний, сферичної форми, 100-120 нм. Капсид (форма усіченого конусу) містить двохнитковий (+)РНК-геном і ферменти вірусу – зворотню транскриптазу (p51) та інтегразу (p32).

Антигенна будова: має поверхневі Аг (глікопротеїни суперкапсиду (gp 41, gp 120) та внутрішні Аг (структурні білки капсиду (типоспецифічні Аг), матриксний білок - p17, капсидний білок - p 24, зв'язувальні білки – p9 і p6.

Глікопротеїни gp41 і gp120 характеризуються високим рівнем мінливості завдяки швидким змінам у генах env і gag.

Резистентність: чутливий до дії перекису водню, концентрованих кислот та лугів, жиророзчинників (етилового спирту, ефіру, ацетону), глютаральдегіду, стійкий до дії низьких температур, іонізуючої радіації, УФ випромінювання, зберігається при кімнатній температурі 15 діб.

Епідеміологія. Джерелом інфекції є хвора людина або вірусоносії. Шляхами передачі ВІЛ-I є: статевий, парентеральний (хірургічні маніпуляції, ін'єкції, при яких використовують інфікований інструментарій), трансплантаційний, трансплацентарний. Основними чинниками передачі ВІЛ є кров, сперма, піхвовий секрет. ВІЛ-I виявляється в слині, грудному молоці.

Культивування вірусу здійснюють в перещеплюваних культурах лейкозних Т-хелперів, моношарових культурах астроцитів, первинних культурах Т-хелперів, стимульованих ІЛ-**Джерелом інфекції** є хвора людина, вірусоносії (ВІЛ-інфікований).

Механізми зараження – парентеральний (перкутанний) і трансплацентарний.

Шляхи зараження: статевий, трансфузійний, інструментальний, ін'єкційний, трансплантаційний, трансплацентарний. Вірус міститься в усіх біологічних секретах людини, найбільшу кількість його виявляють в крові, спермі, вагінальному секреті, грудному молоці. Виділяють 3 стадії патогенезу: 1. Рання вірусологічна (серонегативний період (до 45 діб); період сероконверсії (поява захисних антитіл до поверхневих АГ). В цю стадію вірус вражає всі клітини, що несуть на мембранах рецептори CD 4: макрофаги, моноцити, дендритні клітини лімфатичних вузлів, астроцити, олігодендроцити головного мозку, клітини Лангерганса, Т-хелпери. 2. Безсимптомна стадія, яка триває від 2-3 до 8-10 років; вірус повільно розмножується, більшість вірусів знаходяться в інтегрованому стані. 3. Стадія імунодепресії (СНІД): активація репродукції вірусу, вірусемія, виражене пригнічення імунітету за рахунок загибелі Т-хелперів, приєднання опортуністичних інфекцій, поява

пухлин (саркома Капоші). СНІД-асоційовані захворювання: бактеріальні інфекції (сальмонельози, шигельози, мікобактеріози і туберкульоз, стафілококові і стрептококові інфекції та ін.), вірусні інфекції (герпетичні, цитомегаловірусні), грибові інфекції (генералізовані кандидози, нокардіоз, криптококовий менінгіт, гістоплазмоз), протозойні інфекції (пневмоцистоз, токсоплазмоз, лямбліоз, амебна дизентерія). *Імунітет*: розвивається імунодепресія. Клітинні і гуморальні фактори захисту неспроможні елімінувати вірус з організму.

Профілактика: неспецифічна (раннє виявлення джерела інфекції, розрив механізмів і шляхів передачі інфекції); специфічна (незавершена через високу мінливість вірусу, розробляються живі атенуйовані, інактивовані, генно-інженерні, векторні, хімічні та антидіотипові вакцини).

Лікування: нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (аналоги тимідину – зидовудин, азидотимидин, віро-Z, зідовін, ретровір, ставудін (віростав, зеріт, ставір), аналоги аденіну – диданозин (відекс, вірозин), аналоги цитідину – ламівудин (зеффікс, ладивін, віролам, ламівір, епівір), аналоги гуаніну – абакавір, комплексні препарати (зидовудин + ламівудин) – вірокомб, дуовір, комбівір), нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (невірапін (вірамун, невімун), іфавіренс (стокрін, ефервен), інгібітори протеази: саквінавір (фортоваза), індінавір (криксиван), ритиновір (норвір), нелфінавір (вірасепт), інгібітор інтегрази – зинтенавір, блокатори вірусних рецепторів – зинтевір, тубазид, б-інтерферони.

Матеріал для дослідження: кров. Вірусологічний метод (у серонегативний період) здійснюється в спеціалізованих лабораторіях (культивування в культурах клітин викликає утворення синцитію). Молекулярно-генетичний метод (ПЛР) дозволяє виявити 1 вірус в 10 мл крові. Серологічний метод: діагностика здійснюється в 2 етапи - 1) ІФА – метод скринінгового обстеження для попередньої серодіагностики ВІЛ; виявляють антитіла до поверхневих АГ вірусу (gr 120 і gr 41); 2) імуноблотінг або вестернблот – метод для підтвердження діагнозу ВІЛ-інфекція; застосовують для виявлення антитіл до внутрішніх АГ вірусу методом імуноелектрофорезу.

Клінічні стадії ВІЛ-інфекції.

1. Гостре захворювання, асоційоване з сероконверсією
2. Безсимптомна ВІЛ-інфекція
3. Ранній симптомокомплекс ВІЛ-інфекції
4. Пізній симптомокомплекс ВІЛ-інфекції (СНІД)

Лабораторна діагностика: серологічний, вірусологічний і молекулярно-генетичний методи.

Серологічний метод включає:

1. **ІФА**, який дозволяє виявляти антитіла до ВІЛ-І
2. **Вестернблот (імуноблот)** застосовується для підтвердження факту ВІЛ-1 інфекції. Метод дозволяє виявити специфічні антитіла в сироватці і є тільки підтверджуючим тестом. Результати вважаються позитивними після виявлення антитіл до gr24, p31, а також до gr41 або до gr120.

Вірусологічний метод ефективний навіть у серонегативному періоді ВІЛ-І-інфекції. Віруси виділяють у культурі Т-хелперів з наступною їх ідентифікацією.

Молекулярно-генетичний метод включає використання **ПЛР**, яка дозволяє виявити вірусу РНК.

Неспецифічна лабораторна діагностика передбачає визначення абсолютного вмісту в крові Т-хелперів (CD₄-клітин).

Онкогенні віруси.

Здатність вірусів викликати **розвиток пухлин** вперше довів американський вірусолог П. Раус в 1911 р., а в 1946 р. вітчизняний вірусолог Л.А. Зільбер сформулював теорію вірусного канцерогенезу.

Відповідно до неї геноми вірусів у вигляді провірусу вбудовуються в хромосомний апарат клітини, викликаючи його трансформацію і створюючи **пухлинний фенотип**. Віруси, що проявляють подібні властивості, відомі як **онкогенні** [от греч. onkos, об'ємна маса].

Основне властивість онкогенних вірусів - Здатність викликати розвиток пухлин у лабораторних тварин, у природних господарів і трансформувати клітини в культурі тканин.

В даний час виявлено понад 200 видів онкогенних вірусів, що входять до складу різних сімейств. Вони викликають розвиток пухлин у самих різних теплокровних тварин - птахів, гризунів, травоядних і м'ясоїдних.

Складніше йде справа з вірусами в розвитку пухлин у людини, так як серед безлічі причин, що призводять практично до всіх відомих хвороб злоякісного росту у людини, роль вірусів залишається предметом дискусії. Проте на даний момент отримані вагомі докази того, що причиною виникнення деяких типів пухлин людини виступають віруси. Велику їх частину становлять ДНК-геномні віруси, серед РНК-геномних вірусів ці властивості встановлені тільки у ретровірусів.

Практична робота студентів

Завдання 1. Ознайомитись з особливостями будови ВІЛ, онковірусів та збудників повільних інфекцій за таблицями і слайдами. **Замалювати .**

Завдання 2. Ознайомитись з тест-системами, що використовуються для діагностики СНІДу. **Записати їх.**

Завдання 3. Записати основні препарати, які вживаються для антиретровірусної терапії та механізм їх дії.

ПІДПИС ВИКЛАДАЧА _____

ПЕРЕЛІК ЕКЗАМЕНАЦІЙНИХ ПИТАНЬ З КУРСУ " МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ.

Питання до заліку (1 – 101)

1. Мікробіологія, як фундаментальна наука. Предмет і задачі. Об'єкти вивчення.
2. Значення медичної мікробіології в практичній діяльності лікаря.
3. Історія розвитку мікробіології. Етапи розвитку мікробіології.
4. Корисна і шкідлива діяльність мікроорганізмів. Роль бактерій у кругообігу речовин у природі.
5. Наукова діяльність Л. Пастера. Основні відкриття, їх значення для розвитку мікробіології;
6. Наукова діяльність Р. Коха. Основні відкриття та їх значення для медичної мікробіології.
7. Наукова діяльність І. Мечнікова. Відкриття тканинного і гуморального факторів імунітету (П. Ерліх, Е. Берінг, Е. Ру, А. Іерсен та ін.)
8. Роль вітчизняних вчених у розвитку мікробіології. Роботи Л. С. Ценковського, С. Н. Виноградського, Д. І. Івановського, Н. В. Гамалії, Д. К. Заболотного.
9. Досягнення мікробіологічної науки. Заклади мікробіологічного профілю у нашій країні. Роль сучасних вітчизняних вчених у розвитку мікробіології.
10. Оригінальні методи мікробіологічних досліджень. Принципи темнопольової, фазовоконтрастної, електронної мікроскопії при дослідженні мікробіологічних об'єктів.
11. Барвники, які використовуються в мікробіології. Фарбування за Грамом, механізм. Відмінності у структурі і функціях грампозитивних та грамнегативних бактерій.
12. Основні принципи систематики і класифікації мікроорганізмів. Таксономічні категорії. Критерії виду, клону, популяції, чистої культури, штаму. Бінарна номенклатура.
13. Морфологія, ультраструктура бактеріальної клітини. Хімічний склад бактеріальної клітини.
14. Роль окремих структур бактеріальної клітини для життєдіяльності бактерій і у патогенезі інфекційних захворювань.
15. Особливості мікроорганізмів як живих істот. Принципові відмінності у морфології і структурі еукаріотних та прокаріотних клітин.
16. Організація ядра бактеріальної клітини. Реплікація ДНК у бактеріальній клітині, механізм реплікації, будова геному бактеріальної клітини.
17. Поверхневі структури бактерій: капсула, мікрокапсула. їх значення в процесах життєдіяльності бактеріальної клітини. Будова і хімічний склад капсул. Методи фарбування капсул.
18. Цитоплазма і її включення. Запасні поживні речовини клітини бактерій: волютин, глікоген, гранульоза, ліпопротеїдні тільця, кристалоїдні включення, сірка.
19. Клітинна оболонка. Будова і хімічний склад клітинної оболонки грампозитивних та грамнегативних бактерій. Її значення в процесах життєдіяльності бактерій.
20. Характеристика протопластів, сферопластів і L-форм бактерій. Механізм їх утворення.
21. Рух бактерій. Структура бактеріальних джгутиків. Методи визначення руху бактерій. Характеристика і призначення війок, адгезинів, пілі. Таксис.
22. Загальна характеристика спірохет, риккетсій і актиноміцетів. Таксономічні положення. Спільні ознаки з бактеріальними клітинами.
23. Морфологія грибів (цвільові, дріжджеподібні, дейтеромицети). Будова і структура клітин грибів (мукор, пеніциліум, аспергілус).
24. Тинкторіальні властивості бактерій. Прості і складні методи фарбування. Механізм взаємодії барвників з окремими структурами бактеріальної клітини.
25. Морфологія і структура найпростіших, що викликають захворювання у людини. Загальна характеристика.

26. Спора. Процес спороутворення і його значення для бактерій. Цикл розвитку спороутворюючих бактерій. Характеристика локалізації спор у клітині. Методи фарбування.
27. Таксономія і класифікація вірусів. ДНК-ові та РНК-ові віруси. Хімічний склад віріонів.
28. Морфологія та ультраструктура вірусів. Прості і складні віруси.
29. Поняття про вірус, пріони, віроїди. Методи дослідження віріонів і визначення їх розмірів.
30. Віруси - історичні аспекти. Розбіжності структурної і хімічного складу віріонів від бактерій.
31. Віруси бактерій. Бактеріофаги. Морфологія і структура фагів. Фази взаємодії фага з бактеріальною клітиною.
32. Метаболізм - характеристика конструктивного і енергетичного обмінів. Ферменти і їх роль у обміні речовин. Практичне використання ферментативних властивостей бактерій.
33. Проникнення поживних речовин у бактеріальну клітину. Характеристика голозойного і голофітного способів живлення.
34. Дихання бактерій. Характеристика аеробного і анаеробного типів дихання. Механізм біологічного окислення і відновлення речовин.
35. Характеристика пігментоутворення і його значення для бактеріальних популяцій .
36. Ріст і розмноження бактерій. Крива росту. Фази розмноження бактеріальних популяцій. Клітинний цикл.
37. Основні принципи і методи культивування аеробних і анаеробних бактерій.
38. Поживні середовища і їх класифікація, вимоги до них.
39. Основні принципи культивування патогенних спірохет, найпростіших, риккетсій, хламідій, мікоплазм.
40. Мікроорганізми і фізичні фактори оточуючого середовища. Стерилізація, автоклавування, сублімація. Дія УФ опромінення на мікроорганізми.
41. Методи стерилізації і контроль її якості.
42. Дія хімічних факторів на мікроорганізми. Детергенти, окислювачі, солі важких металів, барвники – механізм дії на бактеріальні клітини.
43. Дезінфекція, асептика, антисептика, дератизація, дезінсекція. Пастеризація. Тіндалізація.
44. Екологія мікроорганізмів. Поширення мікробів у природі.
45. Санітарна мікробіологія, предмет, завдання. Значення санітарної мікробіології в діяльності лікаря.
46. Санітарно-показові мікроорганізми, вимоги до них, їх значення для характеристики об'єктів навоколишнього середовища.
47. Вода як середовище проживання і зберігання мікроорганізмів. Автохтонна і алохтонна мікрофлора відкритих водоймищ. Сапробність. Мікроорганізми – показники процесу самоочищення води.
48. Мікрофлора ґрунту. Роль ґрунту у передачі інфекційних захворювань. Фактори, які впливають на виживаність патогенних мікроорганізмів у ґрунті.
49. Мікрофлора повітря, її характеристика. Роль повітря у передачі інфекційних захворювань.
50. Вплив біологічних факторів на мікроорганізми. Антагонізм, мутуалізм, синергізм, сателізм, хижацтво, паразитизм.
51. Нормальна мікрофлора тіла людини, її роль у фізіологічних процесах і виникненні патології людини.
52. Вікові особливості нормальної мікрофлори носа, шкіри, статевих органів, кишечника.
53. Гнотобіологія.
54. Дисбактеріоз і причини його виникнення.
55. Мікрофлора рослинної лікарської сировини.

56. Пробиотики та еубіотики, їх характеристика, механізм дії.
57. Антибіотики. Історія відкриття антибіотичних сполук. Класифікація антибіотиків за походженням, спектром і механізмом дії. Одиниця дії антибіотиків. Характеристика типів взаємодії антибіотиків з бактеріальними клітинами.
58. Методи визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотичних сполук (якісні і кількісні). Визначення концентрації антибіотиків у крові, сечі.
59. Виникнення і розповсюдження лікарської стійкості бактерій. Механізм антибіотикорезистентності і роль плазмід у резистентності бактерій до лікарських препаратів.
60. Інфекція і інфекційне захворювання. Загальна характеристика мікробного паразитизму.
61. Роль макроорганізму в інфекційному процесі. Значення спадкового фактору. Вплив природних і соціальних факторів життя людини на виникнення, розвиток та наслідки інфекційних хвороб.
62. Біологічний метод дослідження, його застосування для вивчення етіології, патогенезу, діагностики, терапії та профілактики інфекційних хвороб.
63. Патогенність і вірулентність, одиниці виміру, методи визначення, фактори патогенності і агресії.
64. Комплемент, загальна характеристика, шляхи активування комплекменту (класичний, альтернативний).
65. Токсини бактерій. Характеристика екзо, ендо, ентеротоксинів. Механізм дії на організм живих істот. Тропізм токсичних субстанцій бактерій.
66. Умовно-патогенні мікроорганізми. Роль бактеріальних ферментів в патогенезі інфекційних хвороб. Інвазійні властивості патогенних бактерій.
67. Механізм вірусних інфекцій. Персистуючі інфекції. Вірогенія. Умови виникнення.
68. Механізм передачі збудників інфекційних хвороб. Динаміка розвитку інфекційного процесу.
69. Розповсюдження патогенних мікроорганізмів в організмі; бактеріємія, вірусемія, септицемія, септикопемія, токсинемія.
70. Форми прояву інфекцій: гострі, хронічні, вторинні, аутоінфекції, екзо- і ендогенні інфекції.
71. Носійство, реінфекції, суперінфекції, рецидив, реконвалісценція, спорадичність, ендемія, епідемія, пандемія.
72. Шляхи передачі (горизонтальні і вертикальні) інфекційних хвороб. Характеристика вхідних воріт. Навести приклади.
73. Роль макроорганізму, оточуючого середовища і соціальних факторів у виникненні і розвитку інфекційного процесу.
74. Характеристика: DL_m , DL_{50} , інфікуюча доза.
75. Сучасне визначення поняття імунітет. Етапи розвитку імунології як науки. Нобелівські лауреати в галузі імунології, їх внесок у науку.
76. Визначення і загальна характеристика імунітету. Види і форми імунітету.
77. Неспецифічні фактори імунітету. Механізм неспецифічної резистентності. Бактерицидні властивості сироватки крові. Фагоцитоз.
78. Набутий імунітет: активний і пасивний, стерильний і нестерильний. Механізм утворення набутого імунітету.
79. Механізм імунної відповіді. Динаміка імунної відповіді.
80. Антигени. Характеристика будови антигенів. Повноцінні антигени. Гаптени, аутоантигени. Антигенна будова бактеріальної клітини.
81. Антитіла. Класи антитіл, їх будова, методи їх виявлення.
82. Імунологічна пам'ять і імунологічна толерантність.
83. Вроджені і набуті імунодефіцити. Синдром Луї-Бара, імунізаторне гальмування, імунологічний параліч.
84. Аутоімунні процеси. Аутоантитіла. Аутоімунні захворювання.
85. Імунна система організму людини. Імунокомпетентні клітини, їх основні функції.

86. Вікові особливості імунітету.
87. Алергія. Реакції гіперчутливості негайного типу. Анафілаксія. Механізм виникнення анафілактичного шоку. Місцева анафілаксія – феномен Артюса. Пасивна анафілаксія. Десенсибілізація.
88. Сироваткова хвороба, атопія. Хвороби імунних комплексів. Механізм розвитку.
89. Гіперчутливість сповільненого типу. Інфекційна алергія.
90. Реакція аглютинації. Механізм, діагностичне значення. Титр антитіл.
91. Реакція преципітації. Методика постановки, практичне значення.
92. Реакція зв'язування комплементу. Техніка постановки і механізм реакції. Практичне значення.
93. Імунобіологічні препарати. Класифікація вакцин. Вакциноterapia і вакцинопрофілактика. Методи отримання і практичне використання вакцин.
94. Імунні сироватки, класифікація, принципи одержання.
95. Серотерапія і серопрфілактика. Характеристика антитоксичних, антимікробних і антивірусних сироваток і імуноглобулінів.

САМОСТІЙНА РОБОТА

96. Спадкова мінливість. Мутації, їх різновиди. Мутагени фізичні, хімічні, біологічні.
97. Генетичні рекомбінації: трансформація, трансдукція, кон'югація.
98. Значення генетики у розвитку загальної і медичної мікробіології, вірусології, молекулярної біології.
99. Мікробіологічні основи генної інженерії.
100. Схема одержання генних структур і спадково змінених організмів.
101. Досягнення генної інженерії, використання генно-інженерних препаратів у медицині.

МЕДИЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ

102. Загальна характеристика піогенних коків.
103. Стафілококи, види стафілококів, ознаки диференціації стафілококів. Фактори патогенності і токсини. Характеристика хвороб, які вони викликають, патогенез. Лабораторна діагностика, профілактика і лікування.
104. Стрептококи. Загальна характеристика властивостей і класифікація стрептококів. Гемолітичні стрептококи групи А і їх роль в патології людини. Лабораторна діагностика, профілактика.
105. Стрептококові пневмонії. Серологічні групи. Властивості, роль в патології людини. Лабораторна діагностика. Профілактика.
106. Роль стрептококів у патогенезі скарлатини. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика, лікування, профілактика. Феномен Шика; феномен Аристовського-Фанконі.
107. Роль стрептококів у патогенезі ревматизму. Характеристика циклів ревматизму. Лабораторна діагностика, профілактика і лікування.
108. Гонококи. Загальна характеристика гонококів, форми Аша. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика гострої і хронічної форми гонореї. Гоновакцина. Особливості фагоцитарної реакції при гонореї. Лікування.
109. Менінгококи. Характеристика властивостей менінгококу. Патогенез хвороби. Клініка. Лабораторна діагностика. Профілактика.
110. Синьогнійна паличка. Властивості. Патогенність для людини. Методи лабораторної діагностики.
111. Збудник сапу – загальна характеристика, патогенез хвороби. Лабораторна діагностика, лікування.
112. Збудник меліюдозу. Загальна характеристика властивостей, патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика, лікування. Феномен Штрауса.
113. Ентеробактерії, їх еволюція. Класифікація. Значення в патології людини.
114. Ешеріхії, їх властивості, патогенні серовари ешеріхій, їх диференціація. Лабораторна діагностика, профілактика і лікування. Імунітет.

115. Сальмонели. Загальна характеристика. Збудники черевного тифу і паратифів. Патогенез черевного тифу. Серологічна класифікація сальмонел. Лабораторна діагностика. Профілактика і лікування.
116. Сальмонели – збудники гострих гастроентеритів. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика і лікування.
117. Шигели. Загальна характеристика, класифікація. Роль токсинів і ферментів патогенності в патогенезі дизентерії. Клінічні ознаки хвороби, лабораторна діагностика. Профілактика і лікування.
118. Клебсіели, загальна характеристика, класифікація. Характеристика властивостей і антигенної будови. Патогенез хвороб, які вони викликають. Специфічна лабораторна діагностика.
119. Протей. Властивості протeya. Види протeya. Етіологічна роль при гнійних, змішаних і внутрішньо-лікарняних інфекціях. Роль протeya у виникненні харчових токсикоінфекцій. Лабораторна діагностика. Профілактика і лікування.
120. Хелікобактерії. Кампілобактерії. Загальна характеристика. Етіологічна роль при виразкових хворобах. Лабораторна діагностика. Профілактика.
121. Ієрсинії. Збудник чуми. Загальна характеристика збудника чуми, патогенез, клініка, лабораторна діагностика. Профілактика, лікування.
122. Ієрсинії псевдотуберкульозу і ентероколіту. Морфологічні і фізіологічні властивості. Патогенність для людини і тварини. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, імунітет.
123. Вібріони. Загальна характеристика холерних параземолітичних вібріонів. Роль параземолітичних вібріонів у виникненні харчових токсикоінфекцій. Лабораторна діагностика.
124. Вібріони холерні. Властивості морфологічні, культуральні, біохімічні, антигенні. Фактори патогенності. Токсини. Патогенез і імунітет при холері. Лабораторна діагностика. Профілактика. Лікування.
125. Збудник туляремії. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Клінічні форми туляремії. Лабораторна діагностика. Лікування і профілактика.
126. Збудник бруцельозу. Загальна характеристика морфологічних, культуральних і біохімічних властивостей бруцелл. Лабораторна діагностика. Патогенез хвороби. Особливості імунітету. Лікування, профілактика.
127. Гемофільні бактерії. Бордетели – збудники кашлюку. Загальна характеристика властивостей. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
128. Збудники інфлюенци і м'якого шанкру. Загальна характеристика властивостей. Патогенез хвороб. Лабораторна діагностика, профілактика.
129. Збудник сибірської виразки. Загальна характеристика властивостей: культуральні, біохімічні, токсиноутворення, антигенна структура. Патогенез хвороби. Клінічні форми. Лабораторна діагностика. Реакція Асколі. Лікування, профілактика. Антракоїди.
130. Патогенні анаероби. Загальна порівняльна характеристика анаеробних бактерій, їх значення в паталогії людини. Анаероби в хірургії.
131. Збудники правця. Загальна характеристика властивостей. Патогенез хвороби у людини і тварини. Лабораторна діагностика. Профілактика, лікування. Значення мікробних асоціацій у виникненні патологічного процесу.
132. Клостридії ботулізму. Екологія, властивості збудника, характеристика ботулотоксину. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
133. Методи специфічної профілактики і терапії анаеробної інфекції ран.
134. Коринебактерії. Збудник дифтерії. Характеристика біоварів. Фактори патогенності і токсиноутворення. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Диференціація збудника дифтерії від сапрофітних коринебактерій. Лікування і профілактика.

135. Патогенні мікобактерії. Види, властивості збудників туберкульозу. Токсинуотворення. Корд-фактор. Патогенез хвороби. Імунітет, його особливості. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
136. Мікобактерії лепри. Загальна характеристика властивостей збудника лепри. Клінічні форми. Патогенез. Лабораторна діагностика. Профілактика, лікування.
137. Цвільові мікози. Патогенні актиноміцети. Загальна характеристика, види, властивості, екологія. Хвороби, які вони викликають. Лабораторна діагностика.
138. Нокардії, характеристика нокардіозів. Лабораторна діагностика. Лікування.
139. Патогенні спірохети. Трепонеми сифілісу. Екологія, характеристика властивостей. Патогенез сифілісу. Стадії розвитку хвороби. Імунітет, шанкерний імунітет. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
140. Невенеричні форми сифілісу. Характеристика беджель, пінти, фрамбезії. Шляхи передачі, лабораторна діагностика. Профілактика.
141. Патогенні лептоспіри. Збудники лептоспірозу. Загальна характеристика культуральних, морфологічних властивостей. Патогенність для людини і тварини. Патогенез лептоспірозу. Лабораторна діагностика. Профілактика. Лікування.
142. Боррелії - збудники поворотного тифу. Характеристика екології збудників ендемічного і епідемічного зворотного тифу. Лабораторна діагностика. Лікування. Патогенез хвороби. Профілактика.
143. Лайбореліози. Характеристика екології збудників. Лабораторна діагностика. Лікування. Патогенез хвороби. Профілактика.
144. Рікетсії. Збудник висипного тифу. Загальна характеристика морфологічних культуральних властивостей, реакція Вейля-Фелікса. Патогенність для тварини і людини. Патогенез хвороби. Імунітет. Хвороба Брілла-Цинссера. Лабораторна діагностика. Профілактика.
145. 37. Рікетсії – збудники крисиного рікетсіозу. Загальна характеристика, патогенез хвороби. Методи лабораторної діагностики. Диференціація епідемічного і ендемічного висипного тифу.
146. Рікетсії – збудники плямистих лихоманок – північно-азіатський, везикульозний, марсельський. Лабораторна діагностика. Патогенез хвороби. Імунітет, профілактика.
147. Рікетсії - збудники цуцугамуші і параксизмальної лихоманки. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування і профілактика.
148. Рікетсії Ку-лихоманки. Загальна характеристика, екологія. Патогенез хвороби, клінічні форми. Лабораторна діагностика. Імунітет. Профілактика.
149. Бартонелли, загальна характеристика, патогенез хвороби, лабораторна діагностика.
150. Ерліхії. Загальна характеристика, патогенез хвороби, лабораторна діагностика.
151. Патогенні хламідії. Цикли розвитку, загальна характеристика. Збудники трахоми, кон'юнктивіту новонароджених (бленорея з включеннями). Збудник орнітозу і венеричного лімфогранулематозу. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика.
152. Патогенні мікоплазми. Загальна характеристика мікоплазм. Класифікація.
153. Умовно-патогенні мікроорганізми, біологічні властивості, етіологічна роль у виникненні опортуністичних інфекцій. Характеристика захворювань, які вони викликають.
154. Внутрішньо-лікарняні інфекції, умови їх виникнення. Властивості лікарняних ековарів бактерій, мікробіологічна діагностика гнійно-запальних, раньових, опікових інфекцій, спричинених лікарняними штамми бактерій.
155. Клінічна мікробіологія, предмет, задачі, методи, об'єкти досліджень. Критерії етіологічної ролі умовно-патогенних мікроорганізмів, виділених з матеріалів, одержаних від хворих.
156. Загальна характеристика еукаріотів. Латинські назви основних збудників інфекційних захворювань людини.

157. Систематика і класифікація грибів. Морфологія, будова, культивування. Токсинуотворення. Патогенез хвороби у людини. Принципи лабораторної діагностики та лікування. Імунітет.
158. Цвілові гриби. Загальна характеристика. Морфологія, екологія. Характеристика хвороб, які вони викликають. Лабораторна діагностика, лікування.
159. Загальна характеристика збудників поверхневих мікозів. Патогенез хвороб, клінічні форми. Лабораторна діагностика. Лікування.
160. Глибокі і поверхневі кандідози. Екологія збудників. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування. Профілактика.
161. Збудники опортуністичних мікозів. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика, профілактика, лікування.
162. Мікотоксикози, загальна характеристика збудників, патогенез хвороб, клінічні прояви, лабораторна діагностика та лікування.
163. Збудники гістоплазмозу. Загальна характеристика, екологія. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
164. Загальна характеристика збудників бластомікозів. Розповсюдження. Клініка. Патогенез хвороб. Лабораторна діагностика. Профілактика.
165. Хромомікози. Загальна характеристика, екологія збудника. Патогенез і клініка хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
166. Споротрихози. Загальна характеристика, екологія збудника. Патогенез і клініка хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика
167. Найпростіші, загальна характеристика. Цикли розвитку. Класифікація.
168. Лейшманії. Загальна характеристика. Патогенез шкірної форми лейшманіозу. Екологія збудників. Лікування. Профілактика.
169. Збудник вісцерального лейшманіозу. Екологія. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика, лікування, профілактика.
170. Трипаносоми. Загальна характеристика. Екологія. Хвороба Шагаса. Патогенез "сонної" хвороби. Лабораторна діагностика, лікування, профілактика.
171. Трихомонади. Збудники трихомонадіозу. Загальна характеристика. Екологія. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика, лікування.
172. Лямблії. Загальна характеристика. Патогенез хвороби, джерело інфікування. Лабораторна діагностика. Імунітет. Профілактика.
173. Саркодові. Збудники амебіазу. Загальна характеристика. Стадії розвитку в організмі живих істот. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування. Профілактика.
174. Плазмодії малярії. Цикл розвитку малярійного плазмодіуму. Патогенність для тварини і людини. Патогенез хвороби у людини. Клінічні форми малярії. Імунітет. Лабораторна діагностика. Лікування. Профілактика.
175. Споровики. Токсоплазми. Загальна характеристика токсоплазм. Екологія. Патогенність для людей і тварин. Патогенез хвороби у людини. Джерело інфікування. Лабораторна діагностика. Лікування. Профілактика.
176. Балантидії. Загальна характеристика морфологічних і культуральних властивостей. Будова. Екологія. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування.
177. Патогенні актиноміцети. Загальна характеристика, види, властивості, екологія. Хвороби, які вони викликають. Лабораторна діагностика.

МЕДИЧНА ВІРУСОЛОГІЯ

178. Історія відкриття і головні етапи розвитку вірусології. Внесок вітчизняних вчених.
179. Методи вивчення вірусів, їх оцінка.
180. Морфологія і ультраструктура вірусів. Типи симетрії вірусів. Хімічний склад, функції складових частин вірусів.
181. Бактеріофаг, історія вивчення. Структура, класифікація фагів за морфологією.

Методи якісного і кількісного визначення бактеріофагів. Практичне використання бактеріофагів.

182. Форми взаємодії бактеріофагів з бактеріальною клітиною. Вірулентні і помірні фаги. Характеристика продуктивної взаємодії. Лізогенія і фагова конверсія.
183. Сучасні погляди на природу і походження вірусів. Місце вірусів у системі живого .
184. Принципи класифікації вірусів. Основні властивості вірусів людини і тварин.
185. Віруси, загальна характеристика, принципи класифікації.
186. Методи культивування вірусів та їх оцінка.
187. Загальні принципи лабораторної діагностики вірусної інфекції.
188. Загальні принципи лікування вірусної інфекції.
189. Виявлення репродукції вірусів в курячих ембріонах та організмі чутливих тварин. Будова курячого ембріону.
190. Популяційна мінливість вірусів. Механізм вірусної інфекції. Вхідні ворота.
191. Фактори противірусного імунітету. Інгібітори вірусів.
192. Використання клітинних культур у вірусології. Класифікація культур тканин і клітин.
193. Методи виявлення вірусів у культурі тканин і клітин, їх оцінка. Цитопатогенна дія вірусів, її види.
194. Повільні вірусні інфекції.
195. Аденовіруси, парвовіруси. Загальна характеристика структури віріону. Патогенез хвороби. Серотипи. Патогенез хвороб, які вони викликають. Лабораторна діагностика. Лікування і профілактика.
196. Поксвіруси. Загальна характеристика. Вірус натуральної віспи, варіолоїду аллястриму. Методи культивування. Патогенність для людини і тварини. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика. Вірус віспи мавп.
197. Герпесвіруси. Вірус 1 і 2 типів. Загальна характеристика. Патогенез. Лабораторна діагностика. Імунітет.
198. Вірус Епштейн-Барра. Інфекційний мононуклеоз, лімфома Беркітта, назофаренгіальна карцинома. Патогенез хвороб. Загальна характеристика.
199. Вірус вітряної віспи, вірус Зостер. Екологія. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування і профілактика.
200. Ортоміксовіруси. Віруси грипу. Загальна характеристика. Антигенна структура. Патогенез грипу. Лабораторна діагностика, профілактика, лікування.
201. Види антигенної мінливості вірусу грипу, сучасні гіпотези, що пояснюють мінливість ортоміксовірусів. Проблема специфічної профілактики грипу. Препарати, та їх оцінка.
202. Парагрипозні віруси. Загальна характеристика. Антигенна структура. Патогенез хвороби у людини. Лабораторна діагностика.
203. Вірус епідемічного паротиту. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика, лікування.
204. Вірус цитомегалії. Респіраторно-синцитіальний вірус. Лабораторна діагностика.
205. Морбілівірус. Вірус корі. Загальна характеристика. Патогенна хвороба у людини. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
206. Рабдовіруси. Віруси Марбурга, Ебола. Патогенез хвороби, джерело інфікування. Лабораторна діагностика, профілактика
207. Рабдовіруси. Вірус сказу. Екологія. Патогенність для людини і тварини. Джерело інфікування. Патогенез хвороби, джерело інфікування. Специфічна профілактика і лікування.
208. Віруси гепатиту. Сироватковий гепатит В. Загальна характеристика збудника. HBs Ag, HBe Ag, HBe Ag. Джерело інфікування. Патогенез хвороби. Профілактика. Лікування. Імунітет.
209. Віруси гепатиту А. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Лабораторна

- діагностика. Лікування і профілактика.
210. Віруси гепатиту D, C, E, F. Загальна характеристика. Умови виникнення хвороби. Патогенез. Лабораторна діагностика.
 211. Пікорнавіруси. Вірус епідемічного поліомієліту. Загальна характеристика культуральних і морфологічних властивостей, антигенна структура. Патогенність для тварини і людини. Патогенез хвороби, джерело інфікування. Лабораторна діагностика. Імунітет. Профілактика.
 212. Ентеровіруси. Віруси Коксакі і ЕСНО. Загальна характеристика. Патогенез хвороби у людини. Лабораторна діагностика. Профілактика.
 213. Ріновіруси. Віруси ящура, контактного риніту. Загальна характеристика. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
 214. Арбовіруси. Віруси кліщового енцефаліту, омської геморагічної лихоманки. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика. Лікування.
 215. Вірус жовтої лихоманки. Характеристика морфологічних, культуральних властивостей. Патогенез хвороби у людини. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
 216. Тогавіруси. Вірус японського енцефаліту. Загальна характеристика властивостей і патогенезу хвороби. Лабораторна діагностика, лікування.
 217. Вірус лихоманки денге. Загальна характеристика збудника. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Імунітет. Лікування. Профілактика.
 218. Тогавіруси. Вірус краснухи. Загальна характеристика збудника. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
 219. Вірус москітної і кримської геморагічної лихоманки. Екологія збудників. Патогенез хвороби. Лабораторна діагностика. Профілактика.
 220. Вірус Ласса і лімфоцитарного хоріоменінгіту. Загальна характеристика збудників. Патогенез хвороб. Лабораторна діагностика. Лікування, профілактика.
 221. Онкогенні віруси. Загальна характеристика, класифікація. Вірусогенетична теорія виникнення пухлин Л.П. Зільбера.
 222. Ендогенні онковіруси (екотропні і ксенотропні). Загальна характеристика. Сучасні теорії канцерогенезу. Профілактика і діагностика новоутворень, викликаних ними.
 223. Ретровіруси. Вірус СНІДу. Характеристика морфологічних, культуральних властивостей. Будова віріону СНІДу. Патогенез хвороби. Методи лабораторної діагностики. Лікування, профілактика.
 224. Пріони, віроїди, віруссоїди, ретранспозони, плазмідні - загальна характеристика.

ЛІТЕРАТУРА

ОСНОВНА:

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад / За ред. В.П. Широкобокова. – Вінниця: Нова книга, 2021. – 952 с.
2. Медична мікробіологія: посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль (переклад 19-го англ. Видання. Майкл Барер, т.1-2, за редакцією С.І. Климнюка. - Київ: «Медицина», 2021р.
3. Ситник І. О., Климнюк С. І., Творко М. С. Мікробіологія, вірусологія, імунологія. Тернопіль, “Укрмедкнига”, 2019. –392 с.

ДОДАТКОВА:

1. Ройт И. Иммунология.- Лондон-Москва, 2000.
2. Протченко П.З. Загальна мікробіологія, вірусологія та імунологія. Вибрані лекції: Навч. посібник.- Одеса: Одес. держ. мед. ун-т., 2012 р.- 300 с. (Б-ка студента-медика).