

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кафедра загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки  
з курсом мікробіології та вірусології

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Проректор з науково-педагогічної роботи

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

«01» вересня 2024 р.



**МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА**  
**ДО ПРАКТИЧНИХ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**  
**ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ 4. СПЕЦІАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ.**  
**ЧАСТИНА II**

Факультет, курс Медичний (стн) 2 курс

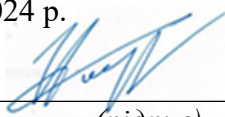
Навчальна дисципліна «Мікробіологія, вірусологія та імунологія»

**Затверджено:**

Засіданням кафедри загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки  
з курсом мікробіології та вірусології  
Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від “26” серпня 2024 р.

Завідувач кафедри \_\_\_\_\_

  
(підпис)

Микола ГОЛУБЯТНИКОВ

**Розробники:**

Голубятников М.І., зав. кафедри, д.мед.н., професор, Грузевський О.А.,  
д.мед.н., професор, Головатюк О.Л., к.мед.н., доцентка; Кольцова І.Г.,  
к.мед.н., доцентка, Куртова М.М., к.мед.н., доцентка, Шевчук Г.Ю., к.б.н.,  
доцентка, Дениско Т.В., асистентка, Дубіна А.В., асистентка, Кагляк М.Д.,  
асистентка, Кобильник С.Н., асистентка, Табуліна А.М., асистентка, Тарасов  
Є.В., асистент.

## Практичне заняття

### Тема: Вібріони

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики холери. Допомогти створити у студентів уявлення про біологічні властивості вібріонів, та вивчити механізми розвитку інфекційного захворювання. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики інфекцій; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування.

**Основні поняття:** родина Vibrionaceae, холера, холерний вібріон, формування біоплівки на зоопланктоні, серовари Огава, Інаба и Гікошима, біовар el-tor, холероген, зневоднення, холерний алгід, регідратація, серогрупи O1 та O139, НАГ – вібріони, середовища TCBS, 1% лужна пептонна вода, лужний агар .

**Обладнання:** схеми мікробіологічної діагностики холери, культура вібріонів для приготування мазка, фазово-контрастний пристрій для вивчення рухливості під мікроскопом, демонстраційні препарати РІФ, поживні середовища, дез.розчин, обладнання робочого місця студента, одноразові медичні рукавички, таблиці, схеми, відеоматеріали, презентації, тести, ситуаційні задачі.

### План

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мета заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Проблема холери, незважаючи на значні успіхи боротьби з цим захворюванням у нашій країні та інших країнах світу, залишається дуже актуальною в інфекційній патології. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань з етіології, патогенезу, принципам специфічної профілактики, терапії, особливо з мікробіологічної діагностики, оскільки вона є обов'язковим методом у постановці діагнозу інфекції і служить основою для вирішення питань вибору підходів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорного рівня знань:

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

##### *Вимоги до знань:*

- знати морфолого - біологічні властивості *Vibrio cholerae*, *Vibrio el-tor* та інших вібріонів;
- знати епідеміологію та патогенез холери;
- знати загальну схему лабораторної діагностики холери;
- знати принципи терапії;
- знати специфічну та неспецифічну профілактику холери;

##### *Перелік дидактичних одиниць:*

1. Морфолого - біологічні властивості вібріонів. Холерні та холероподібні вібріони. Галофільні вібріони.
2. Вимоги при дослідженні збудників особливо небезпечних інфекцій;
3. Класифікація холерних вібріонів: біовари, серовари, НАГ – вібріони. Основні критерії диференціації *Vibrio cholerae* та *V. eltor*.
4. Диференціювання вібріонів за групами Гейберга
5. Токсинутворення холерних вібріонів. Ендотоксин, екзотоксин (холероген). Токсична дія холерогену та його роль у патогенезі холери.
6. Епідеміологія та патогенез холери. Принципи профілактики та етіотропної терапії. Фактори вірулентності *Vibrio cholerae* та їх біологічний ефект

7. Мікробіологічна діагностика холери: мікроскопічний, бактеріологічний, серологічний методи, експрес-діагностика.
8. Лікування.
9. Специфічна профілактика.

## **2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття**

### ***Питання:***

1. Назва збудника холери українською і на латині. Класифікація вібріонів.
2. Морфологія холерних вібріонів, методи мікроскопічного вивчення.
3. Культивування холерних вібріонів. Особливості зростання на рідких і щільних живильних середовищах (швидкість, розташування).
4. Біохімічна активність холерних вібріонів. Токсинутворення. Поняття про холероген).
5. Антигенна структура холерних вібріонів. Хімічний склад антигенів. НАГ – вібріони.
6. Резистентність холерних вібріонів до чинників навколишнього середовища і дезинфектантів.
7. Епідеміологія холери (джерела інфекції, механізми, шляхи і чинники передачі, сприйнятливий організм, значення первинного інфікування і реінфекції).
8. Патогенез холери у людини.
9. Імунітет при холері. Основні механізми, задіяні в імунітеті. Значення клітинного і гуморального імунітету при холері.
10. Лабораторна діагностика холери – перерахувати вживані методи.
11. Мікроскопічний метод діагностики холери. Переваги, недоліки і обмеження методу.
12. Бактеріологічний метод діагностики холери. Диференціальні середовища, для культивування вібріонів. Особливості зростання на них.
13. Прискорені методи діагностики холери. Поняття про ПЦР.
14. Значення серологічних реакцій в діагностиці холери.

### ***Тестові завдання (правильна відповідь А):***

Мікроскопія мазка, взятого з плівки, яка утворилася на пептонній воді через 6 годин після посіву випорожнень і культивування в термостаті, виявила рухливі грамнегативні бактерії, зігнуті у вигляді коми, не утворюють спор або капсул. Які мікроорганізми були виявлені?

- А. Вібріони
- В. Спірохети
- С. Спірили
- Д. Клостридії
- Е. Коринебактерії

Хворий поступив в інфекційне відділення з підозрою на холеру. Який основний метод дослідження необхідно використати для підтвердження діагнозу?

- А. Бактеріологічний
- В. Алергічний
- С. Імунологічний
- Д. Серологічний
- Е. Біологічний

При первинному посіві води на 1% пептонну воду, через 6 годин на поверхні середовища виявлений ріст - ніжна плівка. Для збудника якого захворювання характерні такі культуральні властивості?

- А. Збудника холери
- В. Збудника дизентерії
- С. Збудника псевдотуберкульозу

- D. Збудника туберкульозу
- E. Збудника чуми

З випорожнень хворого гострим гастроентеритом виділена чиста культура рухливих дрібних, декілька зігнутих грамнегативних паличок, які упродовж 6 годин дають ріст на лужній 1% пептонній воді у вигляді ніжної блакитнуватої плівки. Яким мікроорганізмом властиві такі властивості?

- A. Вібріонам
- B. Спірилам
- C. Клостридіям
- D. Бацилам
- E. Спірохетам

На 1% лужній пептонній воді після посіву в неї досліджуваного матеріалу (випорожнень) і 8 годинній інкубації в термостаті був виявлений ріст у вигляді ніжної блакитнуватої плівки. Для збудника якого захворювання характерні такі культуральні властивості?

- A. Холери
- B. Паратифу А
- C. Черевного тифу
- D. Дизентерії
- E. Чуми

У лабораторію особливо небезпечних інфекцій доставлений матеріал від хворого з підозрою на холеру. Який метод експрес діагностики може підтвердити цей діагноз?

- A. РІФ
- B. РП
- C. РСК
- D. РГА
- E. РА

У інфекційне відділення госпіталізований хворий зі скаргами на багатократний пронос і блювоту, біль в м'язах ніг, слабкість, запаморочення. Лікар поставив попередній діагноз - "холера". Як необхідно досліджувати матеріал від хворого для експрес-діагнозу?

- A. Пряма і непряма РІФ
- B. Бактеріологічним методом
- C. РА
- D. Біологічним методом
- E. РП

У селищі зареєстрований спалах діарейного захворювання. У зв'язку з підозрою на холеру випорожнення хворих були спрямовані у бактеріологічну лабораторію для швидкого підтвердження цього припущення. Якими експрес-методами можна скористатися в цьому випадку?

- A. Реакцією імунофлюоресценції
- B. Реакцією преципітації
- C. Реакцією аглютинації
- D. Реакцією зв'язування компліменту
- E. Реакцією кільце преципітації

У бактеріологічну лабораторію районного СЕС доставили воду із ставка, яка використовується в господарських цілях. При бакпосіві води виділена чиста культура холерного вібріона. Яке поживне середовище було використане при цьому дослідженні?

- A. Лужний агар
- B. Агар Ресселя
- C. Агар Ендо
- D. МПА
- E. МПБ

У мазку з випорожнень хворого виявлено грамнегативні бактерії у вигляді коми. Які властивості необхідно насамперед вивчити за допомогою мікроскопа для отримання додаткової інформації про виявлені мікроби?

- A. Рухливість
- B. Наявність цист
- C. Первинну флюоресценцію
- D. Наявність капсул
- E. Наявність спор

Із блювотних мас хворого на гострий гастроентерит виділено Гр- дуже рухливі мікроорганізми у вигляді злегка зігнутих паличок. Які дослідження дадуть змогу з'ясувати, чи є виділений мікроорганізм холерним вібрионом?

- A. Вивчення антигенних і біохімічних властивостей
- B. Визначення чутливості до антибіотиків
- C. Зараження лабораторних тварин
- D. Виявлення ферментів патогенності
- E. Визначення токсигенності в реакції преципітації

З випорожнень хворого виділено вигнуту паличку, спор і капсул не утворює. Ферментує маннозу, сахарозу, крохмаль, не ферментує арабінозу, розріджує желатин. Не гемолізує еритроцити барана. На лужному середовищі дає ріст у вигляді прозорих колоній, на пептонній воді - ріст у вигляді ніжної плівки. Який збудник можна підозрювати?

- A. Холерний вібрион
- B. Шигели
- C. Протей
- D. Сальмонели
- E. Ешерихії

У патогенезі холери значну роль відіграють екзо- та ендотоксини, ферменти агресії. Основним синдромом цієї хвороби є дегідратація. Виберіть, які з перелічених патогенетичних впливів є основною причиною зневоднення.

- A. Активація аденілатциклази
- B. Дефект фосфоліпідів мембран
- C. Відщеплення нейрамінової кислоти
- D. Деструкція муцину
- E. Деструкція гіалуронової кислоти

### **3. Формування професійних вмінь, навичок:**

#### **3.1 зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)**

##### **Задача 1.**

Бригада "швидкої допомоги" прибула до хворого, у якого виник пронос, а потім - часте рясне блювотиння без попередньої нудоти та болю в животі. У блювотних масах спочатку були залишки їжі, потім вона набула водянистого характеру.

- *Попередній діагноз.* Холера.
- *Складіть план обстеження хворому.*

Бактеріологічне дослідження фекалій, блювотних мас.



Реакція іммобілізації, мікроаглютинації вібріонів протихолерною О-сироваткою.  
РНГА, РН, ІФА.

**Задача 2.** Хворий 22 років поступив на 1 добу захворювання зі скаргами на слабкість, пронос. Встановлено, що брат і мати хворого перебувають в інфекційному відділенні. Захворювання почалося раптово з проносу без больових відчуттів з боку кишківника.

Об'єктивно: температура тіла 36,8°C. Шкіра фізіологічного забарвлення, тургор не знижений. Язик вологий, язик вологий. Живіт м'який, безболісний, бурчить. Випорожнення рідкі у вигляді вигляді "рисового відвару". Блювоти немає. Пульс - 80/хв., АТ - 110/70 мм рт.ст. Тони серця звучні.

*Попередній діагноз.* Холера, типова форма, середній ступінь тяжкості, легка дегідратація

Специфічна діагностика:

Бак-посів калу на збудника холери

Експрес-діагностика Аналіз калу на реакцію мікроаглютинації збудника холери

Аналіз крові на РНГА з холерним Ag у динаміці

*Лікування:*

Постільний режим,

Трисоль 1000 мл 2 рази на добу в/в краплинно + Глюкоза 5% 500мл 2 рази на добу в/в крапельно

Ципрофлоксацин 0,5 2 рази на добу, per os

### ***Практичні завдання:***

Заповнити протокол заняття в альбомі: замалювати препарат, пофарбований за Грамом з культури вібріонів. Використовуючи метод фазово-контрасної мікроскопії дослідити рухливість вібріонів. Провести облік результатів РІФ для експрес-діагностики холери.

## **3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)**

***Практична ціль даного заняття ґрунтується на знань та вмінь.***

1. *Алгоритм забору матеріалу для дослідження;* В лабораторії встановлюють суровий режим, дослідження проводять з дотриманням загальних правил при роботі з особливо небезпечними інфекціями. Для дослідження беруть випорожнення, блювотні маси, органи трупа, воду, предмети, харчові продукти.

2. *Бактеріоскопічне дослідження вібріонів для вивчення морфологічних та тінкторіальних властивостей вібріонів.*

- Для цього провести фарбування мазка за Грамом

- Виготовити нативний (живий) препарат «висяча крапля», необхідно дослідити його за допомогою фазово-контрасної мікроскопії для вивчення рухливості і особливостей розташування живих бактерій відносно одна одної.

3. *Для експрес-діагностики холери* використовується метод прямої РІФ, результат якої студенти мають змогу дослідити на практичному занятті.

4. *Бактеріологічний метод.* Посів випорожнень хворого в 1% пептонну воду, на лужній м'ясо-пептонний агар або TCBS.

3. *Серологічний метод* - для остаточної ідентифікації ставлять розгорнену реакцію аглютинації із специфічною О-сироваткою і типоспецифічними сироватками Огава і Інаба, визначають ферментативні властивості

*Таблиця 1 Диференціація основних біоварів холерних вібріонів*

Вібрион	Сахароза	Манноза	Арабіноза	Гемоліз еритроцитів барана	Лізіс фагом С Мукерджи IV	Лізіс фагом Ель-Тор	О-агглютинація	Чутливість до поліміксину
Vibrio cholerae	К	К	-	-	+	-	+	+
Vibrio El Tor	К	К	-	±	-	+	+	-

### **3.3 вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення**

1. Знати схеми лабораторної діагностики вібріонів.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати РІФ. Знати алгоритм проведення.
3. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.
4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу холери.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.
7. Вміти застосовувати свої знання з даної теми в практичній діяльності лікаря.

### **3.4. Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).**

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
5. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповісти на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти не менше ніж на



половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

#### 4. Підведення підсумків

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

##### **Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

##### **Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

#### Список рекомендованої літератури

##### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.

2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

#### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

#### **Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
6. Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## Практичне заняття

### Тема. Ешерихії. Шигели

**Мета:** Ознайомити студентів з основними морфо-біологічними властивостями родини Enterobacteraceae — Ешерихіями та Шигелами, вивчити мікробіологічну діагностику ешерихіозів і шигельозів

**Основні поняття:** *Enterobacteriaceae*, *Escherichia*, *Shigella*, середовища Ендо Левіна,, Плоскірева, Гіса, *E. coli*., ентеропатогенна *E. coli* (ЕПКП), ентероінвазивна *E. coli* (ЕІКП), ентеротоксигенна *E. coli* (ЕТКП), ентерогемолітична *E. coli* (ЕГКП) , ешерихіози, шигели, бактеріальна дизентерія, шигельози

**Обладнання:** Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

### План:

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Кишкові палички викликають різні нозологічні форми інфекцій, серед яких колі-ентерити, дизентеріє- та холероподібні захворювання, особливо у дітей раннього віку, зустрічаються найбільш часто. Розповсюдженість кишкових захворювань є показником санітарного стану території та населених пунктів, а також показником рівня санітарної культури населення. Знання питань етіології, властивостей збудників, механізмів передачі, питань патогенезу, мікробіологічної діагностики, профілактики дозволить здійснювати комплексний підхід до лікувальних та профілактичних заходів та досягати зниження захворювання. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань особливо з мікробіологічної діагностики, оскільки вона є загальним і обов'язковим методом постановки діагнозу цієї інфекції і служить загальною основою для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

Дизентерія – гостре інфекційне захворювання, схильне до довготривалого перебігу. Дизентерія відома з давніх часів. Була описана Гіппократом, який надав назву “дизентерія”. Грізне у минулому своїми спалахами хвороба, супутник війн та народних бід. Боротьба з дизентерією й зараз є важливою проблемою всього світу, як США, Німеччина, Англія і т.д. Полімікробний характер хвороби, аліментарний шлях зараження, зв'язок частоти захворювань з порушеннями санітарного стану територій, населеного пункту, рівнем санітарної культури населення обумовлюють наявність спорадичних захворювань у теперішній час.

#### 2. Контроль опорних знань:

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

1. Описати морфолого-біологічні властивості представників родини кишкових бактерій
2. Описати загальну схему лабораторної діагностики ешерихіозів
3. Описати патогенез ешерихіозів, принципи терапії; профілактику
4. Описати правила узяття і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу
5. Описати режим роботи в бактеріологічній лабораторії

#### Перелік дидактичних одиниць:

1. Загальна характеристика сімейства *Enterobacteriaceae*. Характеристика родів *Escherichia*, *Shigella*
2. Диференціально-діагностичні поживні середовища для культивування ентеробактерій (Середовища Ендо, Левіна, Плоскірева, Гіса)
3. Антигенна структура *E. coli*. Патогенність *E. coli*

4. Патовари *E. coli*: ентеропатогенна *E. coli* (ЕПКП), ентероінвазивна *E. coli* (ЕІКП), ентеротоксигенна *E. coli* (ЕТКП), ентерогемолітична *E. coli* (ЕГКП)
5. Епідеміологія та патогенез ешеріхіозів. Принципи менеджменту та профілактики
6. Загальна характеристика та міжнародна класифікація шигел. Морфолого-біологічні властивості шигел. Патогенні властивості шигел.
7. Епідеміологія та патогенез бактеріальної дизентерії. Принципи менеджменту та профілактики
8. Мікробіологічна діагностика ешеріхіозів та шигельозів

## **2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття**

### ***Питання:***

1. Морфологія кишкових паличок, їх систематична назва латиною.
2. Методи забарвлення кишкових паличок. Основні фарбники, що використовуються для фарбування кишкових паличок. Відношення кишкових паличок до забарвлення по Граму.
3. Ультраструктура кишкових паличок. Апарат адгезії.
4. Культивування кишкових паличок. Особливості складу поживних середовищ.
5. Основні середовища для культивування кишкових паличок. Приклади елективних і диференційно-діагностичних середовищ для цього збудника.
6. Ферментативні властивості кишкових паличок (гліколітична, протеолітична активність), методи визначення указаних властивостей, середовища, що необхідні для цього.
7. Токсиноутворення кишкових паличок. Тип, структура і механізм дії токсину. Поняття про бактеріоцини кишкових паличок.
8. Ферменти і чинники патогенності кишкових паличок.
9. Значення бактеріофагів кишкових паличок (вірулентних і помірних) для властивостей збудника і діагностики.
10. Антигенна структура кишкових паличок. Види антигенів, їхня специфічність залежно від хімічної природи. Антигенна структура токсину кишкових паличок.
11. Резистентність кишкових паличок по відношенню до чинників навколишнього середовища і дезинфектантам.
12. Патогенність кишкових паличок для диких і лабораторних тварин.
13. Епідеміологія ешеріхіозів та шигельозів (джерело інфекції, механізми, шляхи передачі, чутливі організми). Заразність хворих в різні періоди захворювання.
14. Патогенез ешеріхіозів та шигельозів. Можливі вхідні ворота.
15. Основні органи-мішені і танатогенез при ешеріхіозах та шигельозах.
16. Імунітет при ешеріхіозах та шигельозах, його напруженість, спрямованість і тривалість.
17. Методи виявлення імунної перебудови організму при ешеріхіозах та шигельозах.

### ***Тестові завдання (правильна відповідь А):***

При розслідуванні спалаху шигельозу було проведено ряд бактеріологічних досліджень з метою виявлення джерела інфекції. Дослідження не надало результатів. Було прийнято рішення провести фагодіагностику. Таке дослідження передбачає:

- A. Визначення фаготипу виділених культур збудників
- B. Постановку реакції наростання титру бактеріофага
- C. Виявлення функціональних порушень в роботі системи травлення
- D. Визначення фагоцитарної активності крові обстежуваних
- E. Виявлення бактеріофагів в досліджуваному матеріалі

Від хворого з діагнозом дизентерія було виділено шигеллу зі здатністю продукувати екзотоксин. Про який вид шигел йде мова?

- A. Шигела дизентерії
- B. Шигела Нью-Кастла
- C. Шигела Зонне
- D. Шигела Флекснера
- E. Шигела Бойда

В інфекційне відділення лікарні госпіталізовано хворого зі скаргами на нудоту, рідкі випорожнення зі слизом і прожилками крові, підвищення температури, слабкість. Лікар запідозрив дизентерію. Який метод лабораторної діагностики найдоцільніше призначити для підтвердження діагнозу?

- A. Бактеріологічний
- B. Протозоологічний
- C. Мікологічний
- D. Серологічний
- E. Мікроскопічний

У пацієнта з ознаками коліту виділена чиста культура бактерій, яка за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями віднесена до роду шигел. Яку з названих реакцій доцільно застосувати для серологічної ідентифікації виділеної культури?

- A. Аглютинації з діагностичними сироватками
- B. Преципітації
- C. Зв'язування комплексу
- D. Затримки гемаглютинації
- E. Непрямої гемаглютинації

Хлопчик 12 років знаходиться в лікарні з підозрою на харчову токсикоінфекцію. При посіві фекалій хворого на середовище Ендо виросла велика кількість безбарвних колоній. Який мікроорганізм можна з найбільшою ймовірністю ВИКЛЮЧИТИ з числа можливих збудників захворювання?

- A. *Escherichia coli*
- B. *Yersinia enterocolitica*
- C. *Salmonella enteritidis*
- D. *Pseudomonas aeruginosa*
- E. *Proteus vulgaris*

З фекалій хворого виділені шигели Зонне. Які потрібно провести додаткові дослідження для встановлення джерела інфекції?

- A. Провести фаготипування виділеної чистої культури
- B. Поставити реакцію зв'язування комплексів
- C. Поставити реакцію нейтралізації
- D. Поставити реакцію преципітації
- E. Поставити антибіотикограму

Пацієнт одужав після перенесеної дизентерії Зонне і повторно заразився цим же збудником. Як називається така форма інфекції?

- A. Реінфекція
- B. Хронічна інфекція
- C. Суперінфекція
- D. Персистуюча інфекція
- E. Рецидив

Від хворого в лабораторії виділена чиста культура збудника дизентерії. Які дослідження слід провести з метою її остаточної серологічної ідентифікації?

- A. Поставити реакцію аглютинації зі стандартними сироватками
- B. Поставити реакцію непрямой гемаглютинації
- C. Виявити термостабільні антигени в реакції кільцепреципітації
- E. Провести реакцію аглютинації з сироваткою хворого
- D. Провести реакцію молекулярної гібридації ДНК

При бактеріологічному дослідженні випорожнень хворого на кишкову інфекцію було виділено *Shigella sonnei*. Яку з перерахованих реакцій застосували для ідентифікації виділеної чистої культури?

- A. Реакція аглютинації
- B. Реакція преципітації
- C. Реакція нейтралізації
- D. Реакція лізису
- E. Реакція зв'язування компліменту

Лікар-бактеріолог виділив у хворої дитини збудника дизентерії Флекснера — тип 2, Зонне — тип I і ентеропатогенну кишкову паличку — 055 / B5. Як називається такий тип інфекції у даної дитини?

- A. Змішана інфекція
- B. Реінфекція
- C. Носій патогенних бактерій
- D. Суперінфекція
- E. Вторинна інфекція

### **3. Формування професійних вмінь, навичок:**

#### **3.1 міст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)**

##### **Задача 1**

Хвору дитину 5 років, яка відвідує дитячий садок, госпіталізовано до лікарні зі скаргами на головний біль, підвищену температуру, частий стул із домішками слизу та крові, біль у животі із тенезмами. Лікар встановив клінічний діагноз – дизентерія.

1) Який матеріал слід взяти у хворого на дослідження для підтвердження діагнозу?

Випорожнення

2) Хто є збудником цього захворювання?

Бактерія роду Шигел

3) Який метод дослідження є найбільш доцільний?

Бактеріологічний

4) Яким чином можна виявити джерело інфекції у цьому дитячому колективі?

Провести фаготипування чистої культури збудника.

#### **3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань**

##### **Ешерихії**

Родина *Enterobacteriaceae* включає 14 родів: *Escherichiae*, *Klebsiellae*, *Proteus*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella* та інші. До родини входить декілька родів, які в свою чергу розподіляються на види та у ряді випадків на біовари. Більшість патогенних ентеробактерій відноситься до 3 родів: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*. По морфології – палички, грамнегативні, спор, капсул не утворюють, мають джгутики. У більшості штамів, які належать до різних родів видалені війки загального типу та статеві війки. Факультативні анаероби, не вимогливі до харчових середовищ, мають виражену ферментативну активність. Здатність продукувати ферменти та розщеплювати певні субстрати має таксономічне значення. Антигенна будова є одним з суттєвих критеріїв



класифікації, а також ідентифікації ентеробактерій. Розрізняють 3 загальних типи антигенів: 1) О-соматичний антиген, 2) Н-джгутиковий антиген, 3) К-антиген. Середовищем проживання для значної більшості ентеробактерій є кишковий тракт хребетних тварин та людини. Патогенні види зустрічаються тільки у хворих та бактеріоносіїв. Окремі види використовуються у санітарній мікробіології у якості показників фекального засмічення зовнішнього середовища. Патогенна дія зв'язана з ліпополісахаридами (ЛПС) клітинної стінки. Вірулентність визначається їх здатністю до адгезії. Токсигенність обумовлена дією ендотоксина та екзотоксина ( ентеротоксинів та цитотоксинів). Представники родини ентеробактерій здатні викликати спалахи внутрішньо лікарняних інфекцій. При цьому і біовари ешерихій здатні викликати внутрішньолікарняні хвороби, особливо у дітей молодшого віку, при цьому більшість штамів є антибіотикостійкими, що обумовлено кон'югативними R-плазмідами. Серед представників родини, E.coli володіє найбільш високою ферментативною активністю. Ферментує вуглеводи короткого пістрявого ряду Гіса ( за винятком сахарози) з утворенням кислот та вуглекислого газу. Ферментація лактози дозволяє відокремити колонії кишкової палички на диференціально-діагностичних середовищах від видів і штамів не ферментуючих її. При культивуванні на МПБ спостерігається утворення індолу та сірководню. Антигенна будова складна. О-антиген (соматичний), який визначає серологічну групу. 170 О-серогруп. Біля 100 серогруп мають антигенні зв'язки з шигелами, сальмонелами та другими ентеробактеріями. Антигени ешерихій визначають антигенними формулами, які вказують на серогрупу (визначенням О-антигена або К-антигена) або серовар (з визначенням О-,К-,Н-антигенів, наприклад – O126, K60, P2. Мають відносну стійкість до зовнішнього середовища.

Кишкові палички викликають декілька патогенетичних та клінічних форм інфекційного процесу. Їх патогенність корелює в певному ступені з наявністю певного О-антигена, тобто належність до тій чи іншій серогрупи. Певні серогрупи зустрічаються при інфекції сечовивідних шляхів, холециститі, апендициті. Кишкова паличка може викликати перитоніт, сепсис, ендотоксичний шок, харчові інтоксикації. У асоціації з іншими видами бактерій є причиною внутрілікарних інфекцій, викликаючи нагноєння ран та запальні процеси. Велика роль кишкової палички у виникненні гострих кишкових інфекцій – ешерихіозів. До них відносяться колі ентерити, переважно дітей раннього віку ( збудники відносяться до серогруп O26, O55, O111 та інш.), дизентерієподібні (серогрупи O25, O124, O144 та інш.) та холероподібні захворювання (серогрупи O1, O15, O78 та інш.) дітей та дорослих. До патогенних серогруп кишкових паличок відносять ЕПКП (ентеропатогенні), ЕІКП ( ентероінвазивні), ЕТКП ( ентеротоксигенні), ЕГКП (ентерогемолітичні) – збудники коліентеритів, дизентерієподібних та холероподібних захворювань.

Збудники колі-ентеритів та холероподібних захворювань розмножуються на поверхні епітеліальних клітин кишки, дизентерієподібних захворювань – усереднені епітеліальних клітин. При руйнуванні бактерій звільнюється ендотоксин. Збудники холероподібних хвороб утворюють ентеротоксини – секретуємі токсини білкової природи.

### **Мікробіологічна діагностика ешерихіозів.**

Загальним методом є бактеріологічне дослідження.

Для виділення ешерихій використовують диференціально-діагностичні середовища, які мають лактозу та дозволяють відокремлювати колонії лактозопозитивних бактерій від лактозо негативних ( середовище Ендо, Левіна, Плоскір'ова) При посіві дослідженого матеріалу на середовище Ендо через 24 год. інкубації у термостаті при t 37<sup>0</sup>C відмічають будь-які 10 лактозопозитивних колоній (червоного кольору) та аглютинують їх, кожную відокремлено, на склі з сумішшю ОК сироваток патогенних серогруп. При позитивній відповіді залишену частину колонії пересівають на середовище Реселя або

Ольпеницького. Кишкова паличка ферментує глюкозу та лактозу з утворенням кислоти та газу, що виявляють по зміні кольору всього середовища та порушенню його цілісності.

Для визначення серовару виділеної культури проводять РА на склі, використовуючи набір ОК-діагностичних сироваток. Далі визначають О- та К- антигени шляхом постановки розгорнутої РА в пробірках. Для вивчення ферментативної активності проводяться на середовищі Гіса, МПБ. Для виявлення джерела інфекції проводяться визначення фаговара і коліциногенів.

Для швидкої ідентифікації видалених культур або дослідженого матеріалу використовують пряму або непряму РІФ з використанням груп специфічних мічених сироваток. Серодіагностика проводиться шляхом постановки РА та РНГА. Позитивним результатом вважають зростання титру антитіл у динаміці захворювання.

### Шигели

Морфологія та тинкторіальні властивості: Палички, грам негативні, середньої величини, не утворюють спор, капсул, не мають джгутиків. Відсутність джгутиків є однією з характерних ознак дизентерійних бактерій, якою вони відрізняються від бактерій колітифознопаратифозної групи. не вимогливі до харчових середовищ, оптимальна температура росту 37°C. На середовищах Плоскирьова, Ендо утворюють дрібні, ніжні, безкольорові, напівпрозорі колонії.

Біохімічна активність залежить від виду

Підгрупа, вид	Лактоза	Глюкоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Утворення індолу
A-S.dysenteriae	-	+	+	-	-	(В)
B-S.flexneri	-	+	+	+	-	(В)
C-S.boydii	-	+	+	+	-	(В)
D-S.sonnei	повільно /+/	+	+	+	-	(В)

(+)-позитивна реакція, (-) – негативна реакція, (в)- варіабельна

Основу лабораторної діагностики для виявлення хворих та бактеріоносіїв складає бактеріологічне дослідження. Також використовують серологічний метод для виявлення антитіл до шигел в реакції РНГА. Діагностичне значення має зростання титру в 4 рази в динаміці хвороби. Для прискореної діагностики шигельозів використовують методи, які базуються на виявленні специфічного антигену шигел. З цією метою проводять пряму реакцію імунофлюоресценції зі специфічною люмінесцентною сироваткою.

### 3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Проаналізувати колонії кишкових паличок та шигел на середовищі Ендо.
2. Приготувати мазок з культури E. coli та забарвити за Грамом. Оцінити результати.
3. Оцінити біохімічних властивостей E. coli. Визначити біовар.
4. Визначити серогрупу E. coli за допомогою реакції аглютинації на склі.  
матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).
1. Загальна характеристика родини Enterobacteriaceae. Назвіть основних представників.
2. Морфологічні та тинкторіальні властивості кишкової палички.
3. Культуральні властивості та основні диференційно-діагностичні середовища для E.coli. Характеристика росту на цих середовищах.
4. Пояснити поняття “серологічна формула” кишкової палички.
5. Дати характеристику біохімічних властивостей E.coli.
6. Чинники патогенності E.coli. Токсиноутворення.
7. Епідеміологія та патогенез ешерихіозів (ЕПКП, ЕТКП, ЕГКП, ЕІКП).
8. Надати схему лабораторної діагностики ешерихіозів
9. Надати характеристику імунітету при перенесеному ешерихіозі
10. Описати методи лікування та профілактики ешерихіозів.

11. Описати морфо-біологічну характеристику Шигел
12. Надати характеристику антигенної будови Шигел та їхню класифікацію
13. Описати особливості біохімічних властивостей Шигел. Чинники патогенності.
14. Описати епідеміологію (джерело, механізм та шляхи передачі інфекції) та ланки патогенезу шигельозу.
15. Надати схему методів мікробіологічної діагностики шигельозу. Прискорені методи виявлення цього захворювання.
16. Надати характеристику імунітету при шигельозі.
17. Описати схему лікування та профілактики шигельозу.

#### 3.4. Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
5. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

#### 4. Підведення підсумків

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

##### **Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

##### **Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

#### Список рекомендованої літератури

##### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.

2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

#### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

#### **Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
6. Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## Практичне заняття

### Тема. Сальмонели

**Мета:** Ознайомити студентів з основними морфо-біологічними властивостями родини Salmonella. Вивчити мікробіологічну діагностику Salmonella typhi, Salmonella paratyphi, Salmonella schottmuelleri та сальмонели, збудники гастроентероколітів.

**Основні поняття:** Salmonella, середовища Ендо, Левіна, Плоскірева.

**Обладнання:** Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі. Одноразові рукавички, дезрозчин.

### План:

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

Розповсюдженість кишкових захворювань є показником санітарного стану території та населених пунктів, а також показником рівня санітарної культури населення. Знання питань етіології, властивостей збудників, механізмів передачі, питань патогенезу, мікробіологічної діагностики, профілактики дозволить здійснювати комплексний підхід до лікувальних та профілактичних заходів та досягати зниження захворювання. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань особливо з мікробіологічної діагностики, оскільки вона є загальним і обов'язковим методом постановки діагнозу цієї інфекції і служить загальною основою для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, письмове тестування, фронтальне опитування тощо) (у разі необхідності).

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

*вимоги до знань:*

1. Описати морфолого-біологічні властивості сальмонел черевного тифу та паратифів.
2. Пояснити, які середовища використовують для культивування сальмонел
3. Описати ферментативні властивості роду Salmonella
4. Пояснити антигенну структуру за класифікацією Уйта-Кауфмана
5. Пояснити епідеміологію захворювання
6. Пояснити, хто є джерело інфекції
7. Пояснити резистентність сальмонел до факторів навколишнього середовища
8. Описати патогенез черевного тифу і паратифів, збудників ентероколітів
9. Пояснити клініку захворювання
10. Описати правила узяття і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу.
11. Пояснити, які методи мікробіологічної діагностики використовують
12. Описати режим роботи в бактеріологічній лабораторії

##### *Перелік дидактичних одиниць:*

1. Загальна характеристика родини Salmonella. Характеристика черевного тифу, паратифу та збудників гострих гастроентероколітів.
2. Морфологічні та культуральні властивості сальмонел
3. Антигенна структура Salmonella
4. Патогенез і клініка, спричинена збудником роду Salmonella
5. Імунітет після перенесеного захворювання
6. Мікробіологічна діагностика
7. Профілактика та лікування при сальмонельозах

##### 2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття

**Тестові завдання (правильна відповідь А):**

Для череновного тифу використовують реакцію Відаля. Який механізм взаємодії антигені та антител лежить у її основі?

- A. Аглютинація
- B. Преципітація
- C. Гемоліз
- D. Імобілізація бактерій
- E. Бактеріоліз

У серологічній лабораторії досліджується кров хворого з попереднім діагнозом: черевний тиф. Через який час від початку більшості інфекцій може бути ефективним серологічним методом діагностики інфекційних захворювань?

- A. Через тиждень
- B. Через 3 доби
- C. Через 12 годин
- D. Від початку захворювання
- E. Через місяць

Хворий потрапив в лікарню з попереднім діагнозом «черевний тиф». Почувається хворим протягом 3 днів. Використання якого методу дасть можливість підтвердити діагноз?

- A. Виділення гемокультури
- B. Виділення копрокультури
- C. Виділення урінокультури
- D. Виділення розеолокультури
- E. Виділення білікультури

В дитяче інфекційне відділення надійшло кілька дітей з явищами блювоти, високої температури, рідкого випорожнення. Захворювання почалося гостро, через 3 години після обіду, під час якого діти їли пюре з сосисками. Яке захворювання можна запідозрити у дітей?

- A. Харчова токсикоінфекція
- B. Холера
- C. Дизентерія
- D. Колієнтерит
- E. Черевний тиф

Хворий с підозрою на черевний тиф був госпіталізований в інфекційне відділення на 11-й день захворювання. Який основний матеріал для дослідження найкраще взяти від хворого в цей період?

- A. Сироватку крові
- B. Жовч
- C. Випорожнення
- D. Вміст розеол
- E. Сечу

Діагностика захворювань, що викликаються бактеріями кишкової групи, включає вивчення можливості виділеної культури ферментувати вуглеводи. Які середовища необхідно використовувати для цього?

- A. Середовище Гісса
- B. Середовище Ендо
- C. МПА



- D. Середовище Сабуро
- E. Гліцеринове- картопляний агар

З організму хворого з гострим гастроентеритом виділений збудник захворювання . Його слід ідентифікувати за антигенною структурою. Яку серологічну реакцію потрібно використувати для цього?

- A. Реакцію аглютинації
- B. Реакцію преципітації
- C. Реакцію нейтралізації
- D. Реакцію опсонізації
- E. Реакцію зв'язування компліменту

Під час проведення реакції аглютинації Відаля з метою діагностики черевного тифу встановлено: титр антитіл О-нтитіл на рівні 1: 1600, Н-антитіл 1: 200. Який це період захворювання?

- A. Період розпалу захворювання
- B. Продромальний
- C. Період реконвалісценції
- D. Інкубаційний
- E. Латентний

Пацієнту з підозрою на носійство збудника черевного тифу зроблено реакцію Ві-гемалютинації. Починаючи з якого розведення сироватки титр антитіл матиме діагностичне значення?

- A. 1: 40
- B. 1: 320
- C. 1: 80
- D. 1: 180
- E. 1: 20

Який з наступних мікроорганізмів, що вражають шлунково- кишковий тракт, найчастіше викликає бактеріємію:

- A. *Salmonella typhi*
- B. *Shigella flexneri*
- C. *Campylobacter jejuni*
- D. *Vibrio cholerae*
- E. *Vibrio eltor*

Біопроби не використовують для діагностики:

- A. Черевного тифу
- B. Чуми
- C. Туляремії
- D. Сальмонельозов
- E. Сибірки

До дитячого інфекційного відділення надійшло кілька дітей із дитячого садка з явищами блювоти, високої температури, рідкого випорожнення. Зцілення почалося гостро, через три години після обіду, під час якого діти їли пюре з сосисками. Яке захворювання можна запідозрити у дітей?

- A. Харчова токсикоінфекція
- B. Холера
- C. Дизентерія

- D. Колієтерит
- E. Черевний тиф

Харчове отруєння виникло у кількох людей, які відзначали ювілейну дату за святковим столом. До якого роду найімовірніше ставляться бактерії, що викликали захворювання?

- A. Salmonella
- B. Clostridium
- C. Shigella
- D. Yersinia
- E. Corinebacterium

Діагностика захворювань, викликаних бактеріями кишкової групи, включає вивчення здатності виділеної чистої культури ферментувати вуглеводи. Які середовища необхідно використовувати для цього?

- A. Середовища Гісса
- B. Середовище Сабуро
- C. Гліцериново-картопляний агар
- D. Середовище Ендо
- E. МПА

### **3.Формування професійних вмінь, навичок:**

#### ***3.1 зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)***

##### ***Задача 1***

Тримісячна дитина захворіла гостро. Мати скаржитися на підвищення температури до 38,8<sup>0</sup> С, часті випорожнення і повторне блювання, які з'явилися на наступний день після підвищення температури .

Загальний стан дитини тяжкий. Дитина неспокійна. Шкірні покрови сухі, бліді, чисті. Слизові оболонкі сухі, червоного кольору. Дихання жорстке. ЧСС- 150 ударів за 1 хвилину, тони серця глухі. Живіт піддутий, болючий при пальпації. Печінка пальпується на 5 см нижче краю правої реберної дуги. Пальпується збільшена селезінка. Впродовж однієї доби випорожнення до 6 разів об'ємні, смердючі, водянисті, зелені з мутним слизом. На 3-тю добу хвороби у випорожненнях з'явилися прожилки крові , на 5-ту добу – ознаки гострого остеомієліту правої стегнової кістки.

Про яке захворювання можна думати?

- A. Сальмонельоз
- B. Амебіаз
- C. Черевний тиф
- D. Дизентерія
- E. Ешерихіоз

##### ***Задача 2***

З якими захворюваннями необхідно проводити диференціальний діагноз?

- A. Усіма перелченими
- B. Сепсис
- C. Шигельоз
- D. Черевний тиф
- E. Ешерихії

#### ***3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)***

Термін	Визначення
1	2
Сальмонели Salmonella	Належать до родини Enterobacteriaceae, це грамнегативні, рухомі (перитрихи) палички, факультативні анаероби, хемоорганотрофи
Сальмонельози - гострі сальмонельозні гастроентерити	Представники роду Salmonella різних серологічних груп –це група гострих кишкових захворювань людей і тварин
Ендо, Плоскірева	Диференційно-діагностичні середовища, які використовують для виділення і первинної ідентифікації ентеробактерій; сальмонели на них виростають у вигляді безбарвних колоній, оскільки лактозонегативні.
Вісмут-сульфіт агар	Щільне елективне середовище, використовується для виділення сальмонел, які утворюють на ньому колонії чорного кольору внаслідок відновлення металевого вісмуту.
Жовчний бульйон	Селективне середовище для сальмонел
Гіса ряд	Середовище для визначення цукролітичних властивостей сальмонел
Олькеницького середа	Трьохцукрове середовище з сечовиною для визначення ферментативних властивостей сальмонел
Серологічна ідентифікація сальмонел	Визначення виду, серогрупи, сироватки сальмонел за О- та Н-антигенами за допомогою реакції аглютинації згідно з класифікацією Кауфмана-Уайта
О-антиген	Соматичний ліпополісахарид клітинної стінки. За цим антигеном збудники сальмонельозу належать до В, С, Д, Е серогруп.
Н-антиген	Джгутиковий, за ним визначають сальмонели, що належать до специфічної фази Н-антигенів: і, r, с, gm, eh.

### **3.3 вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення**

1. Уміти приготувати мазок із культури, що виросла на жовчному бульйоні, забарвити за Грамом, мікроскопіювати
2. Уміти зробити пересівання з жовчного бульйону на середовище Ендо для виділення гемокультури
3. Уміти вибрати підозрілу колонію на середовищі Ендо та пересіяти її на скошений МПА
4. Знати серологічні реакції та провести облік та оцінку РНГА і реакції Відаля для серодіагностики кишкових тифів
5. Знати відповіді на питання з орієнтовної карти альбому та методички
6. Замалювати збудника черевного тифу та заповнити таблиці в альбомі з практичних занять

### **3.4 матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності)**

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
5. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

#### **4. Підведення підсумків**

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

**Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

## 2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

### **Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

## Список рекомендованої

### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory: a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).

12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

**Електронні інформаційні ресурси:**

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) - Centers for diseases control and prevention
5. [www.ama-assn.org](http://www.ama-assn.org) – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. [www.who.int](http://www.who.int) – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/) - Державний експертний центр МОЗ Укра



## Практичне заняття

### Тема: Інші патогенні ентеробактерії: клебсієла, ентеробактер

**Мета:** Ознайомити студентів з умовно-патогенними представниками родини Enterobacteriaceae – клебсієлою та ентеробактером, особливостями збудників та захворювань, які вони викликають. Спрямувати увагу студентів при вивченні теми на екологію збудників, здатність викликати внутрішньолікарняні інфекції та високий рівень антибіотикорезистентності. Вивчити основні методи мікробіологічної діагностики інфекцій, викликаних цими збудниками.

**Основні поняття:** Klebsiella pneumoniae, Klebsiella granulomatis, Klebsiella oxytoca, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, пневмонія, уrogenітальні інфекції, сепсис, озена, риносклерома, нозокомінальні інфекції

**Обладнання:** Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі.

#### План:

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

До родини Enterobacteriaceae належить велика кількість патогенних для людини збудників захворювань, а й умовно-патогенних представників, до яких належить Klebsiella та Enterobacter. У природі зустрічаються повсюдно – їх можна знайти у ґрунті, воді, в організмі людини та тварин. Є представником мікрофлори організму та зустрічається у носовій, ротовій порожнинах та у кишківнику та може виявлятися в організмі здорової людини. Актуальність теми обумовлена значним впливом цих мікроорганізмів на імунокомпромісних пацієнтів, здатністю викликати опортуністичні та внутрішньолікарняні (госпітальні) інфекції. Можуть спричиняти широкий спектр хворобливих станів: пневмонії, інфекції сечовивідних шляхів, менінгіт, сепсис, діарею, перитоніт. Ці збудники можуть циркулювати у відділеннях інтенсивної терапії, хірургічних та опікових відділеннях, контамінувати розчини, прибори, внутрішньо судинні катетери та медичну апаратуру, що є ризиком розповсюдження лікарняних інфекцій. ВООЗ зарахувала клебсієли до небезпечних бактерій у зв'язку з їх полірезистентністю до існуючих антибактеріальних препаратів.

#### 2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, письмове тестування, фронтальне опитування тощо) (у разі необхідності).

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

*вимоги до знань:*

1. Надати загальну характеристику родини Enterobacteriaceae. Привести приклади патогенних та умовно-патогенних представників.
2. Описати морфолого-біологічні властивості роду Klebsiella.
3. Описати морфолого-біологічні властивості Ентеробактеру.
4. Епідеміологія захворювань, викликаних клебсієлою та ентеробактером – пневмонія, озена, риносклерома, госпітальні інфекції.
5. Напрямки у лікуванні та профілактиці клебсієльозів та ентеробактеріозів.

#### *Перелік дидактичних одиниць*

Методи лабораторної діагностики клебсієльозів та ентеробактеріозів.

Внутрішньолікарняні інфекції, викликані клебсієлою та ентеробактером – причини, прояви, складнощі діагностики та лікування.

Заходи спрямовані на профілактику розповсюдження клебсієльозів та ентеробактеріозів

##### 2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття

#### *Питання:*

1. Морфологічні особливості та тінкторіальні властивості клебсієл. Видова назва деяких представників на латині.
2. Культивування клебсієл - основні поживні середовища, тип дихання, основні біохімічні властивості та методи їх вивчення.
3. Чинники патогенності клебсієл.
4. Антигенна будова – основні антигени, сероваріанти.
5. Екологія та розповсюдження клебсієл у зовнішньому середовищі та в організмі людини. Резистентність збудника.
6. Захворювання викликані клебсієлою(пневмонія, озена, риносклерома) – епідеміологія та патогенез.
7. Мікробіологічна діагностика клебсієльозів.
8. Профілактика та лікування інфекцій, викликаних клебсієлою.
9. Морфологічні та тінкторіальні властивості ентеробактеру.
10. Основні види, які викликають захворювання у людини.
11. Фактори ризику розвитку ентеробактеріозу.
12. Мікробіологічна діагностика та лікування ентеробактеріозу.
13. Роль Клебсієли та Ентеробактеру у розвитку внутрішньо лікарняних інфекцій.

**Тестові завдання (вірні відповіді А)**

У хворого з підозрою на озену з носоглотки були виділені грам негативні палички, які утворювали капсулу при рості на поживному середовищі. Які мікроорганізми спричинили хворобу?

- A. Клебсієли
- B. Сальмонели
- C. Шигели
- D. Хламідії
- E. Мікоплазми

Від хворого з підозрою на госпітальну пневмонію, викликану *Klebsiella pneumoniae*, взято матеріал для мікроскопічного дослідження. Назовіть основні морфологічні та тінкторіальні властивості збудника

- A. Грамнегативні палички, оточені капсулою
- B. Грампозитивні палички, містять спору
- C. Комоподібні грамнегативні палички
- D. Грампозитивні палички с зернами волютину
- E. Спіралеподібні бактерії

До родини Enterobacteriaceae відносяться патогенні та умовно-патогенні бактерії. Серед перелічених оберіть умовно-патогенного представника родини Ентеробактерій, якій здатен викликати захворювання у людей зі зниженою імунологічною резистентністю

- A. *Klebsiella pneumoniae*
- B. *Shigella dysenteriae*
- C. *Salmonella typhi*
- D. *Salmonella typhimurium*
- E. *Yersinia pestis*

Бактерії роду Клебсієла та Ентеробактер здатні викликати опортуністичні інфекції, які виникають за наявності у хворого

- A. Імунодефіцитних станів
- B. Алергії
- C. Імунологічної пам'яті
- D. Імунологічної толерантності
- E. Аутоімунних захворювань

Захворювання, викликані умовно-патогенними збудниками Ентеробактером та Клебсієлою характеризуються наступним ствердженням

- A. Виникають на фоні імунодефіцитних станів
- B. Не мають інкубаційного періоду
- C. Не мають продромального періоду
- D. Мають строгу органну локалізацію
- E. Не діагностуються

У хворого в реанімаційному відділенні після постановки внутрішньо судинних катетерів виникла бактеріємія, спричинена Ентеробактером. Що характеризує цей стан:

- A. Наявність життєздатних бактерії в крові
- B. Наявність токсинів в крові
- C. Наявність бактерій в сечі
- D. Наявність бактерій в лікворі
- E. Наявність вірусів в крові

У хворого в хірургічному стаціонарі після оперативного втручання розвинулася пневмонія. При мікроскопії мокротиння виявлені грам негативні палички оточені вираженою капсулою, не рухливі. Які мікроорганізми це можуть бути

- A. Клебсієла
- B. Кишкова паличка
- C. Холерний вібріон
- D. Мікобактерія
- E. Корінебактерія

При спалаху госпітальної інфекції, ймовірно клебсієльозної етіології, у відділенні новонароджених, були відібрані проби матеріалу для лабораторного дослідження. Який метод лабораторної діагностики слід застосувати?

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

Після тривалого лікування в стаціонарі у хворого виникла госпітальна інфекція з симптомами бактеріємії. Виберіть матеріал для лабораторного дослідження з метою встановлення етіології збудника

- A. Кров
- B. Випорожнення
- C. Сеча
- D. Мокротиння
- E. Ліквор

Умовно-патогенні мікроорганізми, такі як Клебсієла та Ентеробактер, здатні викликати внутрішньо лікарняні інфекції, які важко піддаються лікуванню. В чому полягає основна причина труднощів лікування

- A. Множинна антибіотикорезистентність
- B. Стійкість у зовнішньому середовищі
- C. Нестійкість у зовнішньому середовищі
- D. Термостабільність
- E. Спороутворення

### **3. Формування професійних вмінь, навичок:**

### 3.1. зміст завдань

4. Проведіть облік результатів культуральних властивостей ентеробактерії на поживних середовищах, які запропоновані вже з колоніями.
5. Вивчити мікробіологічні методи діагностики ентеробактерії та ознайомитись з морфологічними, тинкторіальними та культуральними особливостями цих збудників.
6. Ознайомитись з препаратами, які використовують для діагностики
7. Розглянути та замалювати демонстраційні препарати ентеробактерії

### 3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо);

Род *Klebsiella* відноситься до родини Ентеробактерій. Основні види, патогенні для людини – *K.pneumoniae*, *K.ozaenae*, *K.rhinoscleromatis*. За морфологією є товсті короткі палички, нерухомі, не утворюють спор, розташовуються поодинокі, попарно або короткими ланцюжками. Мають виражену полісахаридну капсулу, яку утворюють як в організмі так і на поживних середовищах. Грамнегативні. Факультативний анаероб, добре росте на простих поживних середовищах при температурі 35-37°C. Крайні границі – 12-41°C. На МПА утворюють каламутні і слизисті, різні за структурою колонії. На МПБ – інтенсивне помутніння. Під впливом несприятливих факторів дисоціюють з утворенням S- та R-форм. Ферментативні властивості залежать від виду, *K.rhinoscleromatis* найменш активна. Оксидазонегативні. Клебсієли пневмонії виробляють термостабільний ентеротоксин, у решти видів токсичність зумовлена дією ендотоксину. Деякі види мають фімбрії. Представники роду *Klebsiella* мають два типи антигенів – соматичний O-Аг, якого існує 9 різновидів та K-Аг, капсульний полісахарид з більш ніж 80 різновидами. Що використовується в серологічній ідентифікації для визначення серогруп. Обидва антигени сприяють патогенності збудника. На основі цих двох антигенних детермінант було розроблено декілька вакцин.

Види Клебсієли зазвичай зустрічаються в кишковому тракті і в верхніх дихальних шляхах людини як звичайна флора, однак вони також можуть проявляти себе як умовно-патогенні мікроорганізми. Можуть викликати пневмонію, інфекції сечовивідних шляхів, діарею, сепсис, менінгіт, перитоніт та інфекції м'яких тканин у пацієнтів з імунодефіцитними станами.

*K.pneumoniae* є найпоширенішою причиною нозокомінальних інфекцій дихальних шляхів та інфекцій інтенсивної терапії, а також другою за частотою причиною грам негативної бактеріємії та інфекцій сечовивідних шляхів. Стійкі до ліків, мають множинну резистентність до антибіотиків зумовлену наявністю R-плазмід, здатні продукувати ферменти (в-лактамази та карбапенемази) та механізм насосів для виведення кількох препаратів. Здатність *K.pneumoniae* колонізувати лікарняне середовище, включно з апаратурою, килимовим покриттям, раковинами, поверхнями та ін., а також шкіру пацієнтів та лікарняного персоналу, було визначено як головний фактор поширення внутрішньо лікарняних інфекцій.

Клебсієли озени спричиняють хронічне ураження верхніх дихальних шляхів (гортань, трахея), атрофію навколоносових пазух і носових раковин, виділення в'язкого секрету, що підсихає з утворенням твердих кірок, які утруднюють дихання та мають різкій неприємний запах. Клебсієли склероми зумовлюють розвиток хронічного гранулематозного або атрофічного процесу в слизовій оболонці носа, глотки, гортані, трахеї, бронхів з утворенням інфільтратів, які закінчуються рубцюванням. Склерома – слабкоконтагіозне хронічне захворювання.

Лабораторна діагностика базується на мікроскопічному дослідженні, виділенні чистої культури та її ідентифікації, серологічна діагностика (РЗК) з сироватками хворих.

Було проведено багато випробувань для створення ефективних вакцин проти *K.pneumoniae* та інших клебсієл. Однак наразі жодна вакцина не була ліцензована для використання.

### **3.3. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення**

1. Розглянути демонстраційний препарат *K.pneumonia*, описати основні морфологічні властивості збудника
2. Надати схему мікробіологічної діагностики клебсієльозу та ентеробактеріозу
3. Дати оцінку чутливості *K.pneumonia* до антибіотиків в демонстраційному препараті (антибіотикограми)
4. Вміти виконувати посів досліджуваного матеріалу на поживні середовища
5. Заповнити альбом
6. Вміти виготовляти мазки з досліджуваного матеріалу та проводити мікроскопію

### **3.4. матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).**

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
5. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити

обґрунтовані висновки, відповіді на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

**4. Підведення підсумків:** Усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

**Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

**Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

## **Список рекомендованої літератури**

### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

### **Електронні інформаційні ресурси:**

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) - Centers for diseases control and prevention
5. [www.ama-assn.org](http://www.ama-assn.org) – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. [www.who.int](http://www.who.int) – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/) - Державний експертний центр МОЗ Укра

## Практичне заняття

### Тема. Ієрсинії

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти необхідні знання щодо зоонозних та особливо небезпечних інфекцій. Допомогти створити студентам уявлення про морфолого-біологічні та патогенні властивості ієрсиній. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики чуми псевдотуберкульозу, кишкового ієрсиніозу, навчити інтерпретації результатів досліджень; методів профілактики та лікування.

**Основні поняття:** особливо небезпечні інфекції, зоонози, чума, псевдотуберкульоз, кишковий ієрсиніоз.

**Обладнання:** схеми, таблиці, фото- і відеоматеріали мікробіологічної діагностики чуми; демонстраційні матеріали – готові мікропрепарати збудників чуми.

### План

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Чума – гостра, зоонозна особливо небезпечна, карантинна інфекційна хвороба з ураженнями шкіри, лімфатичних вузлів, легень, геморагічною септицемією й інтоксикацією. Збудник чуми – *Yersinia pestis* – належить до роду *Yersinia* родини *Enterobacteriaceae*. До цього роду входять ще два патогенних для людини види ієрсиній: *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*. Крім трьох основних збудників ієрсиніозів виділяють ще 8 видів, які в інфекційній патології людини значення не мають, правда, окремі з них можуть зрідка викликати опортуністичні інфекції. Джерелом чуми в природі є різні види диких і домашніх тварин, гризунів, а переносниками – їх блохи. Проникаючи в людську спільноту, чумна інфекція може стати антропонозом, який розповсюджується у вигляді епідемій і пандемій. У всіх країнах світу санітарно-епідеміологічною службою міністерства охорони здоров'я здійснюється санітарна охорона границь від можливого завезення цих інфекцій. Спеціальні служби ведуть постійний строгий нагляд, проводять профілактичні заходи, завдяки чому захворювання чумою серед людей не реєструються. Однак, можливість інфікування і можливість завезення чуми з інших країн існує. Тому вивчення теми необхідно для придбання знань з етіології, патогенезу, методам лабораторної діагностики і профілактика чуми, як однієї з особливо небезпечних інфекцій.

#### 2. Контроль опорного рівня знань:

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

###### **Вимоги до знань:**

1. Знати морфологічні, тинкторіальні і культуральні властивості збудників чуми;
2. Знати диференціальні ознаки роду *Yersinia*;
3. Знати особливості епідеміології збудників чуми;
4. Знати загальну схему лабораторної діагностики чуми;
5. Знати патогенез та основні клінічні прояви чуми;
6. Знати особливості специфічної та неспецифічної профілактики чуми та принципи терапії.

###### **Перелік дидактичних одиниць:**

1. Характеристика зоонозних інфекцій. Інфекції, на які поширюються міжнародні медико-санітарні правила (особливо небезпечні інфекції). Режим роботи із такими збудниками.
2. Морфолого-біологічні властивості збудників чуми.



3. Екологія збудників чуми. Природна осередкованість чуми. Роботи Д.К.Заболотного з епідеміології чуми.
4. Патогенез та основні клінічні прояви чуми.
5. Мікробіологічні методи діагностики чуми: мікроскопічний, бактеріологічний, біологічний, алергічний методи, експрес - індикація збудників.
6. Принципи терапії та профілактики.

## **2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття**

### ***Питання:***

1. Морфологічні властивості ієрсиній.
2. Біохімічні властивості ієрсиній. Культуральні властивості ієрсиній. Особливості складу середовищ, які використовують для культивування ієрсиній.
3. Антигенна структура ієрсиній. Значення антигенів ієрсиній для діагностики.
4. Токсини і фактори патогенності ієрсиній, стисло – їхня дія.
5. Резистентність ієрсиній по відношенню до чинників оточуючого середовища і дезинфектантам.
6. Патогенність ієрсиній для тварин. Значення тварин в захворюваності людини.
7. Епідеміологія ієрсиніоза (джерела інфекції, механізми, шляхи і фактори передачі, чутливий організм).
8. Патогенез чуми у людини (вхідні ворота, шляхи розповсюдження в організмі, власне патогенез).
9. Імунітет при чумі. Значення клітинного і гуморального імунітету.
10. Лабораторна діагностика чуми – перерахувати і охарактеризувати методи.
11. Матеріал для дослідження при чумі – види, правила отримання.
12. Бактеріологічний метод діагностики чуми. Переваги, недоліки і обмеження методу.
13. Біологічний метод діагностики чуми.
14. Лікування чуми.
15. Специфічна і неспецифічна профілактика чуми.

### ***Тестові завдання (правильна відповідь А):***

Людина пішки перетнула місцевість, де спостерігалася епізоотія чуми серед гризунів. Він міг бути інфікований:

- А. Блохами
- В. Мухами
- С. Вошами
- Д. Кліщами
- Е. Москитами

Зі скаргами, характерними для чуми, до лікаря звернувся геолог, який повернувся з експедиції. При обстеженні лікар виявив симптоми пневмонії. Який метод мікроскопії досвідченого матеріалу (мокротиння) дозволить виявити характерну для збудника чуми нерівномірність фарбування?

- А. Метиленовим синім (за Леффлером)
- В. Фуксином Циля
- С. Фуксином Пфейффера
- Д. Грама
- Е. Романовського-Гимзе

Шлях передачі чуми:

- А. Будь-який з перелічених
- В. Повітряно-крапельний
- С. Аліментарний

- D. Контактний
- E. Трансмісивний

Пацієнт з лихоманкою, ознобом і кашлем. З мокроти виділені овоїдні грамнегативні біполярно забарвлені палички з ніжною капсулою. Який найбільш вірогідний діагноз?

- A. Чума
- B. Токсоплазмоз
- C. Лептоспіроз
- D. Туберкульоз
- E. Бруцельоз

При мікроскопії мокроти хворого з попереднім діагнозом "гостра пневмонія" виявлено хаотично розташовані мікроорганізми овоїдної форми завдовжки до 2 мкм, інтенсивніше забарвлені на полюсах. Який найбільш вірогідний діагноз можна встановити на підставі отриманих даних?

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

Достовірність бактеріологічного дослідження при діагностиці чуми підвищується при застосуванні реакції імуофлюоресценції. Опишіть отриману при цьому мікроскопічну картину.

- A. Дрібні овоїдні палички з яскраво-зеленим світінням
- B. Великі палички з обрубаними кінцями фіолетового кольору
- C. Дрібні коковидні бактерії рожевого кольору
- D. Злегка зігнуті червоні палички, розташовані під кутом
- E. Дрібні палички із закругленими кінцями рожевого кольору

У селищі К. у декількох господарствах була виявлена масова загибель щурів. Виникла підозра, що причиною може бути чума. Які постмортальні дослідження тварин слід провести з метою екстреного встановлення збудника інфекції?

- A. Реакція кільцепреципітації
- B. Реакція зв'язування компліменту
- C. Реакція аглютинації
- D. Реакція пасивної аглютинації
- E. Реакція нейтралізації

Для специфічної профілактики чуми використовують

- A. Жива вакцина Жирара і Робіка зі штаму EV
- B. Антитоксична сироватка
- C. Анатоксин
- D. Інактивована вакцина
- E. Геноінженерна вакцина

Милицевець полював в степовій місцевості. В день його повернення з полювання надійшло повідомлення про епізоотію чуми серед гризунів в цій місцевості. Який препарат необхідно використати для екстеної неспецифічної профілактики захворювання?

- A. Антибіотик
- B. Противочумний імуноглобулін
- C. Правцевий анатоксин
- D. Чумний бактеріофаг

Е. Противочумну вакцин

### **3. Формування професійних вмінь, навичок:**

#### **3.1. зміст завдань**

1. Дати визначення термінам особливо небезпечна інфекція, зоонозна інфекція
2. Вивчити мікробіологічні методи діагностики чуми та ознайомитись з морфологічними, тинкторіальними та культуральними особливостями цих збудників.
3. Ознайомитись з препаратами, які використовують для діагностики, специфічної профілактики і лікування чуми
4. Розглянути та замалювати демонстраційні препарати збудників чуми.
5. Ознайомлення із протичумним комплектом.

#### **3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)**

Мікробіологічне дослідження проводиться з метою діагностики захворювання, виявлення інфікування тварин і переносників в ендемічних осередках та встановлення контамінації ієрсиніями різних об'єктів оточуючого середовища. При цьому використовують бактеріоскопічний, бактеріологічний, біологічний і серологічний методи, а також алергічну пробу з пестином для ретроспективної діагностики.

Дослідження проводять в спеціальних лабораторіях і в протичумних костюмах з дотриманням строгого режиму в роботі. Залежно від клінічної форми і місця локалізації збудника об'єктами для дослідження можуть бути: вміст бубону при бубонній формі, відокремлювання язви при шкірній формі, випорожнення при кишковій формі, слиз із зіва і мокрота при легеневої формі, кров при септицемічній формі, паталогоанатомічний матеріал (органи, кров, вміст лімфатичних вузлів, легені), трупи гризунів, блохи, вода, харчові продукти, повітря та ін. Дослідження проводять по етапах:

- 1) Мікроскопія мазків, фіксованих в суміші Никіфорова, забарвлених по Граму, метиленовим синім по Леффлеру, міченою люмінесцентною сироваткою проти *Y. pestis* (пряма РІФ). Виявлення в мазках характерних, біполярно забарвлених, овоїдних, грамнегативних бактерій, які дають специфічне люмінесцентне світіння у вигляді яскравого зеленуватого ореолу навколо клітин, при характерних клінічних симптомах та врахуванні епідеміологічної ситуації, дає право поставити попередній діагноз чуми.
- 2) Посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища з виділенням чистої культури та її ідентифікації; Досліджувані матеріали, не контаміновані сторонньою мікрофлорою (кров, пунктат бубонів, ліквор), сіють у флакони з МПБ і паралельно в чашки з МПА або агаром Хотінгера. Матеріал, забруднений супутньою флорою, висівають на МПА з сульфітом на трію, середовища Туманського (МПА з 1 % гемолізованої крові та генціановим фіолетовим в концентрації 1:100000-1:400000) або Коробкової (0,15 % напіврідкий агар з 0,3 % гемолізованої крові та генціановим фіолетовим 1:200000). Для інактивації чумного фагу на поверхню щільних середовищ наносять і рівномірно розподіляють 0,1 мл антифагової сироватки. Посіви вирощують при 28 °С і 37 °С.
- 3) Біологічна проба, відтворена на морських свинках з виділеною чистою культурою, а також з матеріалом, з якого важко отримати культуру. В останньому випадку досліджуваний матеріал у вигляді густої суспензії втирають морським свинкам в поголену ділянку шкіри в області живота. Якщо матеріал не контамінований супутньою мікрофлорою (кров, пунктат бубону), його вводять підшкірно або внутрішньоочеревинно.

За наявності чумних бактерій тварини гинуть на 5 - 7-й день. Для прискорення діагнозу заражених морських свинок на 2 - 3-й день вбивають і з їхніх органів виділяють культуру мікробів чуми.

Ідентифікують чумні бактерії на підставі визначення морфологічних, культуральних, ферментативних, фаголізабельних, аглютинабельних властивостей: виділену культуру диференціюють із збудником псевдотуберкульозу та кишкового ієрсиніозу Біопроба в діагностиці чуми має вирішальне значення.

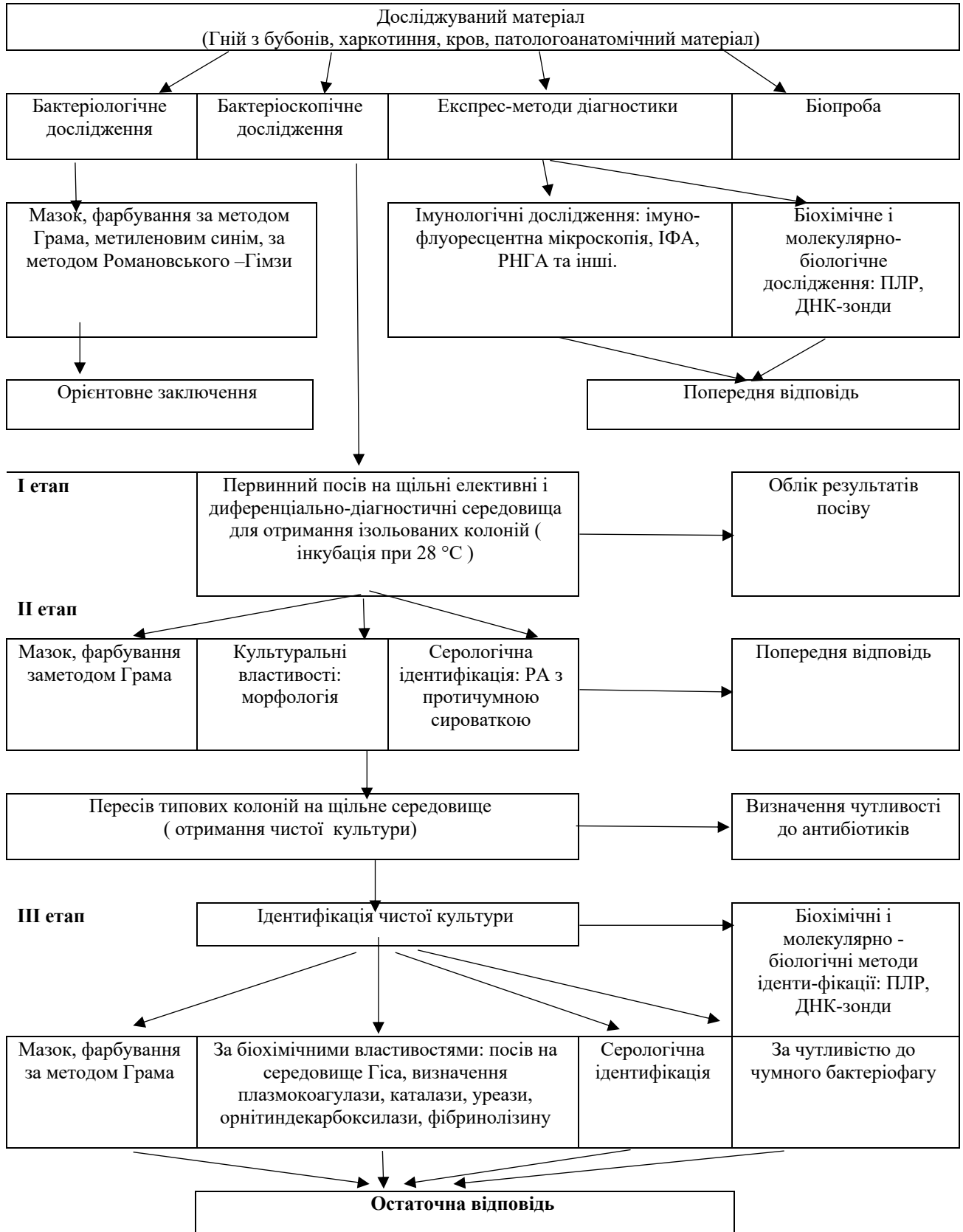
### Диференціація збудників чуми, псевдотуберкульозу і кишкового ієрсиніозу

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

Серологічна діагностика. Проводять постановку РНГА з еритроцитарним діагностикомом, на якому адсорбований капсульний антиген *Y. pestis*. Діагностичним титром вважають розведення сироватки 1:40.

Експрес- методи діагностики. ІФА, РІФ, РНГА, імуофлуоресцентна мікроскопія, ПЛР, ДНК-зонди.

## Схема мікробіологічного дослідження при чумі



### 3.3. вимоги до результатів роботи

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

### 4. Підведення підсумків

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

**Підсумковий контроль:** тестування за типом Крок-1, іспит.

**Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:**

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

### Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
Відмінно «5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
Добре «4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
Задовільно «3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
Незадовільно «2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів. Тестування не виконано.

### Список рекомендованої літератури

#### Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Широбоков В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

#### Додаткова:

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).

3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

**Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
  2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
  3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
  4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
  5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
- Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)



## Практичне заняття

### Тема: Псевдомонади

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики *Pseudomonas aeruginosa* в практичній діяльності лікаря. Допомогти створити у студентів уявлення про механізми розвитку інфекційних захворювань спричинених *Pseudomonas aeruginosa*. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики опортуністичних інфекцій, спричинених синьогнійною паличкою; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування синьогнійної інфекції. .

**Основні поняття:** *Pseudomonadaceae* , *Pseudomonas aeruginosa* (синьогнійна паличка). грам негативні аеробні палички, ентеротоксин, екзотоксин, резистентність, вакцина полівалентна корпускулярна синьо- гнійна, анатоксин, піоціанін, піовердин, опортуністичний патоген, ЦПХ-агар.

**Обладнання:** бланк направлення матеріалу на мікробіологічне дослідження, демонстраційні результати з ІФА, РІФ, ПЛР, лікувально - профілактичні та діагностичні демонстраційні препарати ( діагностикуми, вакцини, антибіотики), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі, мультимедійні презентації.

### План

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Актуальність теми визначається необхідністю мати загальне уявлення про методи діагностики параміксовірусів для поглибленого вивчення інфекційних захворювань та застосування знань у практичній діяльності лікаря. Мета заняття полягає в тому, щоб студенти ознайомились, проаналізували та вивчили матеріал стосовно родини *Paramyxoviridae*, виникнення нових штамів, перспективних напрямків імунотерапії хворих на кір, паротит. Аналіз лабораторної діагностики, лікування, профілактичної вакцинації та її ефективність.

#### 2. Контроль опорних знань:

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

**Вимоги до знань:**

- знати морфолого - біологічні властивості *Pseudomonas aeruginosa*;
- знати епідеміологію *Pseudomonas aeruginosa*.;
- знати загальну схему лабораторної діагностики *Pseudomonas aeruginosa*.;
- знати принципи терапії;
- знати специфічну та неспецифічну профілактику;
- пояснить, чому *Pseudomonas aeruginosa* є збудником внутрішньолікарняних інфекцій?
- пояснить, чому лікування ускладнене.

##### **Перелік дидактичних одиниць:**

1. Морфолого - біологічні властивості вібріонів *Pseudomonas aeruginosa*
2. Вимоги при дослідженні умовно-патогенних мікроорганізмів;
3. Лабораторна діагностика.
4. Ферментативні властивості
5. Фактори патогенності
6. Антигенні властивості
7. Епідеміологія та патогенез
8. Патогенез
9. Принципи профілактики та етіотропної терапії.

## 2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття

### **Питання:**

1. Таксономія псевдомонад.
2. Морфологія *Pseudomonas aeruginosa*, методи мікроскопічного вивчення.
3. Культивування холерних вібріонів. Особливості зростання на рідких і щільних живильних середовищах (швидкість, розташування).
4. Біохімічна активність *Pseudomonas aeruginosa*
5. Антигенна структура *Pseudomonas aeruginosa*.
6. Резистентність *Pseudomonas aeruginosa*.
7. Патогенез.
8. Лабораторна діагностика *Pseudomonas aeruginosa*.
9. Мікроскопічний метод діагностики *Pseudomonas aeruginosa*.
10. Серодіагностика *Pseudomonas aeruginosa*.

### **Тестові завдання (правильна відповідь А):**

Під час бактеріологічного контролю якості дезінфекції, проведеної в аптеці, у підсобному приміщенні (у зливні раковини умивальника) виявлено мікроорганізм із такими властивостями: рухливі неспоріві неспоріві грамнегативні палички, утворюють капсулоподібну речовину, добре ростуть на простих поживних середовищах, виділяючи синьо-зелений пігмент. До якого якого роду найімовірніше належить цей мікроорганізм?

- A. *Pseudomonas*
- B. *Proteus*
- C. *Clostridium*
- D. *Shigella*
- E. *Vibrio*

У пацієнта з пієлонефритом із сечі виділено синьогнійну паличку, яка виявилася чутливою до гентаміцину за концентрації його в сечі 2 мкг/мл. Який метод дослідження дав змогу встановити мінімальну концентрацію, що пригнічує ріст мікроба концентрацію (МПК) антибіотика?

- A. Серйозних розведень антибіотика
- B. Паперових дисків, змочених антибіотиками
- C. Паперових дисків, змочених сечею
- D. Серійних розведень сечі
- E. Серійних розведень поживного середовища

Встановлено, що генетичну основу позахромосомної стійкості визначають елементи, що містять гени, які зумовлюють резистентність клітини до різних лікарських засобів, насамперед до антибіотиків. Які саме?

- A. R-плазмід
- B. Мітохондрії
- C. Апарат Гольджі
- D. Цитоплазма
- E. Нуклеоїд

Із сечі хворого на пієлонефрит виділено мікроорганізми, що утворюють на МПА колонії жовто-зеленого кольору і мають характерний запах.

На МПА колонії жовто-зеленого кольору і мають характерний запах. Який це мікроорганізм?

- A. Псевдомонада

- B. Ешерихія
- C. Клебсієла
- D. Протей
- E. Стафілокок

Під час проведення бактеріологічного методу діагностики гнійно-септичного захворювання на м'ясопептонному агарі виявлено ріст мікробів, особливості якого дали змогу припустити наявність синьогнійної інфекції. У чому полягала ця особливість культуральних властивостей?

- A. Утворення синьо-зеленого пігменту.
- B. Утворення повзучого росту.
- C. Утворення R-форм колоній у вигляді "мереживної хусточки"
- D. Утворення золотистого пігменту.
- E. Утворення S- форм колоній у вигляді крапельок ртуті.

Виділену з гною непігментовану бактеріальну культуру змішали на склі з 1% розчином диметилпарафенілендіаміну, і за 1 хвилину бактерії забарвилися в червоний колір, що дало змогу визначити приналежність їх до родини Pseudomonadaceae. Назвіть цю пробу.

- A. На цитохромоксидазу
- B. На каталазу
- C. На уреазу
- D. На нітратредуктазу
- E. На лецитиназу

Під час бактеріологічної діагностики гнійно-септичного захворювання (імовірно спричиненого синьогнійною паличкою) за добу культивування посіву гною на селективному середовищі за певних умов отримано ріст бактерій, що дало змогу попередньо підтвердити діагноз. Яке селективне середовище було використане в даному випадку і за якого температурного режиму відбувалося культивування?

- A. ЦПХ - агар, при 420С.
- B. МПА - середовище, при 420С.
- C. ЦПХ - агар, при 370С.
- E. ров'яний агар, при 370С.
- D. К ЦПХ - агар, при 40С

### **3. Формування професійних вмінь, навичок:**

#### **3.1 міст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо);**

1. Який матеріал беруть на дослідження від хворого з підозрою на синьогнійну інфекцію?
2. Які методи мікробіологічної діагностики використовують при синьогнійній інфекції?
3. Які морфологічні та тинкторіальні властивості має синьогнійна паличка?
4. За якими особливостями культуральних властивостей можна ідентифікувати синьогнійну паличку?
5. Які біохімічні властивості дозволяють ідентифікувати синьогнійну паличку?
6. Яким шляхом можна стимулювати продукцію пігментів синьогнійної палички?
7. Як можна визначити цитохромоксидазну та каталазну активність синьогнійної палички?
8. У якій реакції можна визначити антигенні властивості синьогнійної палички?
9. Як проводиться внутрішньовидова ідентифікація синьогнійної палички?

#### **3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)**

*Практична ціль даного заняття ґрунтується на знань та вмінь.*

Мікробіологічна діагностика синьогнійної інфекції ґрунтується на бактеріологічному методі - виділенні чистої культури мікробів і вивченні комплексу їхніх біологічних властивостей.

Відбір і доставка матеріалу для дослідження виконується за правилами загальними для всіх гнійно-септичних інфекцій. Матеріал для дослідження необхідно брати перед початком терапії антибактеріальними препаратами з дотриманням правил асептики. Гній, кров, кал, сечу, мокротиння тощо висівають на селективне середовище (ЦПХ-агар), МПА, 5% кров'яний агар, середовище Ендо. Селективний ЦПХ-агар містить селективний агент N-цетилпіридинію хлориду (N-ЦПХ) у концентрації 0,2%. Посіви сектором на селективному для псевдомонад середовищі поміщають за температури 42°C у термостат на добу. Наявність росту бактерій на цьому середовищі вказує на приналежність до *P. aeruginosa*. Посіви на інших середовищах культивують за температури 37°C.

Якщо на селективному середовищі ріст відсутній, враховують ріст на 5% кров'яному агарі, МПА, середовищі Ендо. Колонії псевдомонад плоскі, соковиті, в'язкої консистенції, спаяні з середовищем. Деякі штами дають колонії з перламутровим блиском.

За наявності унікального синьо-зеленого пігменту (піюціаніну), що виробляється псевдомонадами під час їх культивування, можна розрізнити до 80% штамів синьогнійної палички. У разі відсутності пігменту ізольовану колонію пересівають на скошений МПА, культивують у термостаті та після визначення чистоти виділеної культури мікробів продовжують їх ідентифікацію за культуральними, біохімічними, антигенними та іншими властивостями. У мазках, забарвлених за Грамом, *P. aeruginosa* мають вигляд дрібних грамнегативних паличок, які розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками. У разі росту на поживних середовищах синьогнійні палички дають специфічний запах жасмину.

Проба на цитохромоксидазу виконується з 1% водним розчином диметилпарафенілендіаміну. На поверхню скла наносять краплю реактиву, а поруч поміщають культуру мікробів, яку досліджують. Скляною паличкою перемішують реактив на культуру мікробів. Через 1 хвилину за наявності цитохромоксидази бактерії забарвлюються в червоний колір.

Проба на каталазу. У 3% розчин перекису водню вносять культуру мікробів. Визначення проводиться через 5 хвилин за виділенням бульбашок кисню.

***Диференціальні ознаки р. Aeruginosa та інших найбільш поширених псевдомонад***

Тести	Культури мікробів		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. fluorescens</i>
Ріст на ЦПХ-агарі при 42°C	+	-	-
Ріст на ЦПХ-агарі при 37°C	+	+	-
Окислення глюкози на середовищі Хью-Лейфсона	+	+	+
Цитохромоксидаза	+	+	+
Каталаза	+	-	-
Піюціонін	+	-	-
Флуоресцеїн	+	-	-
Желатиназа	+	-	+
Ацетат амідне середовище	+	-	-

**3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення**

1. Знати схеми лабораторної діагностики дифтерії.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати ІФА та ПЛР, проведених з метою виявлення в досліджуваному матеріалі корінебактерій. Знати алгоритм проведення.
3. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.

4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.

#### **3.4. Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).**

6. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
7. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
8. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
9. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
10. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше

90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

#### 4. Підведення підсумків

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

##### **Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

##### **Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

#### Список рекомендованої літератури

##### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

##### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).

6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

**Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
6. Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## Практичне заняття

### Тема. Кампілобактери і хелікобактери.

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики кампілобактеріозів та хелікобактеріозів. Допомогти створити у студентів уявлення про біологічні властивості кампілобактерій та хелікобактерій та механізми розвитку інфекційних захворювань, ними спричинених. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики цих інфекцій; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування.

**Основні поняття:** мікроаерофіли, кампілобактерії, хелікобактерії, виразкова хвороба, уреазна активність.

**Обладнання:** схеми мікробіологічної діагностики, фазово-контрасний пристрій для вивчення рухливості нативного препарату під мікроскопом, демонстраційні препарати РІФ, таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі.

### План

#### 1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Актуальність теми зумовлена поширеністю інфекції *Helicobacter pylori* та її безпосереднім зв'язком з розвитком захворювань шлунка і дванадцятипалої кишки. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань з етіології, патогенезу, принципам специфічної профілактики, терапії цих інфекцій, особливо з мікробіологічної діагностики, оскільки вона є обов'язковим методом у постановці діагнозу цих інфекцій і служить основою для вирішення питань вибору підходів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорних знань:

##### 2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять

###### *Вимоги до знань:*

знати морфолого-біологічні властивості *Campylobacter* і *Helicobacter*

знати загальну схему лабораторної діагностики, патогенез, принципи терапії та профілактики кампілобактеріозу, хелікобактеріозу.

###### *Перелік дидактичних одиниць:*

1. Морфолого-біологічні властивості вібріонів.
2. Характеристика мікроаерофільних спіралеподібних грамнегативних бактерій. *Campylobacter jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*, патогенез кампілобактеріозних ентеритів, епідеміологія, лабораторна діагностика.
3. *Helicobacter pylori*. Морфолого-біологічні властивості. Роль рухливості, продукції уреаз, фосфоліпази та цитотоксинів як факторів вірулентності. Участь у патогенезі виразкової хвороби.
4. Лабораторна діагностика хелікобактерної інфекції – мікроскопічний, бактеріологічний, серологічний методи. Уреазні тести для експрес-діагностики

##### 2.2. питання для перевірки базових знань за темою заняття:

###### *Питання:*

1. Рід *Campylobacter*. Класифікація, біологічні властивості, роль в патогенезі та мікробіологічна діагностика.
2. Рід *Helicobacter*. *Helicobacter pylori* – збудник гастроуденальних захворювань людини. Біологічні властивості.



- Фактори колонізації слизової оболонки шлунка. Уреазна активність. Патогенез хелікобактерної інфекції. Методи мікробіологічної діагностики та
3. Лікування хелікобактерної інфекції.

**Тестові завдання (всі відповіді А):**

До лікаря звернулася 53-річна жінка із скаргами на діарею та болі в животі, які турбують її протягом останніх трьох днів. Для полегшення свого стану використовувала народні засоби, однак вони не принесли полегшення. Зразок випорожнень був направлений на лабораторне дослідження, в матеріалі присутній слиз та прожилки крові. Мікроскопічне дослідження фекалій не виявило найпростіших, однак були виявлені звивисті мікроорганізми, які за формою нагадували крила чайки. Бактеріологічне дослідження дозволило виділити культуру мікроаерофільних оксидазо-позитивних грам-негативних звивистих рухливих мікроорганізмів, які не продукували уреазу. Який із мікроорганізмів був виділений?

- A. *Campylobacter jejuni*
- B. *Helicobacter pylori*
- C. *Salmonella cholerae suis*
- D. *Escherichia coli*
- E. *Vibrio haemolyticus*

Назвіть основний шлях передачі інфекції *Campylobacter jejuni*:

- A. Аліментарний
- B. Контактний-побутовий
- C. Статевий
- D. Повітряно-крапельний
- E. Парентеральний

Діарейне захворювання, спричинене яким із видів кампілобактерів становить 80-90% від загальної кількості випадків?

- A. *C. jejuni*
- B. *C. lari*
- C. *C. coli*
- D. *C. fetus*
- E. *C. upsaliensis*

Який із видів кампілобактерів є основною причиною позакишкових інфекцій, що розвиваються в основному в організмах з ослабленим імунітетом і в літньому віці? Загальні прояви включають бактеріємію, сепсис, менінгіт, судинні інфекції (ендокардит, аневризми та тромбофлебіт).

- A. *C. fetus*
- B. *C. lari*
- C. *C. coli*
- D. *C. jejuni*
- E. *C. upsaliensis*

У хворого на виразкову хворобу шлунку з підвищеною кислотністю після ендоскопічного та бактеріологічного досліджень було виділено бактерії роду *Helicobacter*. Завдяки якій властивості ці мікроорганізми не гинуть в кислому середовищі шлунку?

- A. Уреазної активності
- B. Стійкості до ванкоміцину
- C. Каталазної активності

- D. Здібності утворювати капсулу
- E. Оксидазної активності

У хворого на виразкову хворобу шлунку при проведенні фіброгастроскопії було взято біоптат слизової оболонки в області виразки. З біоптату виготовлений мазок-відбиток пофарбований за методом Грама. З рештою біоптату проведено пробу на уреазну активність. Під час мікроскопії мазка-відбитка було виявлено грамнегативні спіралеподібні мікроорганізми, тест на уреазну активність позитивний. Які бактерії було виявлено?

- A. *Helicobacter pylori*
- B. *Spirilla minor*
- C. *Shigella flexneri*
- D. *Treponema pallidum*
- E. *Campylobacter jejuni*

Після дослідження біоптату, взятого від хворого під час фіброгастродуоденоскопії було поставлено бактеріологічний діагноз: хелікобактеріоз. Яка із особливостей бактерій, виділених у цього хворого, була обов'язково врахована при культивуванні?

- A. Мікроаерофільність
- B. Наявність ферменту уреазу
- C. Колонізація клітин гастрального типу
- D. Відсутність спор та капсул
- E. Наявність шести полярних джгутиків

При проведенні фіброгастроскопії з приводу виразкової хвороби шлунку у хворого Б. був узятий матеріал для бактеріологічного посіву. У результаті виявлено мікроорганізми, деякі з яких можуть бути фактором розвитку виразкової хвороби. Що це за мікроорганізми?

- A. *Helicobacter pylori*
- B. *Corynebacterium pseudodiphtheriae*
- C. *Mycobacterium fortuitum*
- D. *Staphylococcus saprophyticus*
- E. *Candida albicans*

У 45-річного чоловіка рентгенологічно діагностовано виразку шлунку. На яке поживне середовище потрібно посіяти біопсійний матеріал з області виразки для бактеріологічного підтвердження діагнозу?

- A. Поживне середовище для виявлення уреазу
- B. Середовище Ендо
- C. Кров'яний агар
- D. М'ясо-пептонний агар
- E. Середовище Плоскірева

Мікрофлора шлунку нечисленна. Це пов'язують з кислотністю шлункового вмісту. Завдяки продукції якого ферменту виживає у шлунку *Helicobacter pylori*, який бере участь у розвитку виразкової хвороби?

- A. Уреазу
- B. Гіалуронідази
- C. Протеази
- D. Аденілатциклази
- E. Ліпази

### 3. Формування професійних вмінь, навичок:

#### 3.1 міст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)

**Задача** (Джерело *Medical Microbiology 8th Edition - Patrick R Murray, Ken S Rosenthal*).

Мати та її 4-річний син звернулися до місцевого відділення невідкладної допомоги з діареєю та спазмами в животі протягом 1 дня. Обидва пацієнти мали субфебрильну температуру, і в зразку калу дитини була помітна кров. Симптоми з'явилися через 18 годин після того, як пацієнти з'їли вечерю, яка складалася зі змішаного зеленого салату, курки, кукурудзи, хліба та яблучного пирога. Посів зразків крові був негативним на мікроорганізми, але *Campylobacter jejuni* був виділений зі зразків калу як матері, так і дитини.

**Питання 1.** Яка їжа, яку вони вживали, найімовірніше, є причиною цих інфекцій? Які заходи необхідно застосовувати для профілактики цих інфекцій?

**Пояснення.** Інфекції, викликані *C. jejuni*, були пов'язані з великою різноманітністю харчових продуктів; однак найпоширенішим джерелом інфекції є заражена домашня птиця. Повністю приготуйте всю птицю та продезінфікуйте всі поверхні, де готується сира птиця, щоб уникнути інфекцій.

**Питання 2.** Назвіть три види *Campylobacter*, які були пов'язані з гастроентеритом. Назвіть види *Campylobacter*, які найчастіше асоціюються із септицемією.

**Пояснення.** Три види *Campylobacter*, які найчастіше асоціюються з гастроентеритом, це *C. jejuni*, *C. coli* та *C. upsaliensis*. *C. fetus* є видом, який найчастіше асоціюється із септицемією.

**Питання 3.** Які захворювання пов'язані з *Helicobacter pylori*? *Helicobacter cinaedi*? *Helicobacter fennelliae*?

**Пояснення.** Захворювання, спричинені *H. pylori*, включають гастрит, пептичну виразку, аденокарциному шлунка та В-клітинні лімфоми MALT шлунка. *H. cinaedi* та *H. fennelliae* колонізують шлунково-кишковий тракт і пов'язані з проктитом, проктоколітом та ентеритом у гомосексуальних чоловіків.

**Питання 4.** *H. pylori* має кілька факторів вірулентності. Які фактори впливають на секрецію шлункової кислоти? Для прилипання до шлункового епітелію? За порушення шлункового слизу? За втручання у фагоцитарне вбивство?

**Пояснення.** *H. pylori* виробляє кислотно-інгібуючий білок, який індукує гіпохлоргідрію під час гострої інфекції, блокуючи секрецію кислоти з парієтальних клітин. Уреаза, що виробляється *H. pylori*, також нейтралізує шлункову кислоту шляхом розкладання сечовини до аміаку. *H. pylori* виробляє різноманітні адгезини, які опосередковують зв'язування з епітелієм шлунка, включаючи адгезію, що зв'язує сіалову кислоту, адгезину за групою крові Льюїса та різні інші гемаглютиніни. Муциназа та фосфоліпази руйнують шлунковий слиз, а супероксиддисмутаза та каталаза перешкоджають фагоцитарному знищенню.

#### **Практичні завдання:**

Заповнити протокол заняття в альбомі: замалювати препарат, пофарбований за Грамом з культури вібріонів. Використовуючи метод фазово-контрасної мікроскопії дослідити рухливість вібріонів. Врахувати результат РІФ для експрес-діагностики холери.

#### **3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)**

До роду *Campylobacter* відносяться аероби або мікроаерофільні жваві вібріодні грамнегативні бактерії. Рід *Campylobacter* включає 13 видів. Рід *Helicobacter* включає 2 види — *H. pylori* і *H. mustelae*, останній виділений від тхорів.

Кампілобактеріоз — інфекційне захворювання, що характеризується гострим початком, лихоманкою, поразкою шлунково-кишкового тракту. Дослідження, проведені останніми роками, показали, що у ряді країн кампілобактери є збудниками гострих

кишкових захворювань не рідше (а іноді і частіше), ніж сальмонели, шигели і ротавіруси, і викликають — залежно від сезону і особливостей регіону — від 3 до 15% ОКЗ.

В інфекційній патології людини і тварин найважливішу роль грають види *S.jejuni*, *S.coli*, *S.lari*. На підставі здібності до зростання при відносно високій температурі інкубації (42 °С) вони об'єднані в групу термофільних кампілобактерій. Серед інших мезофільних видів кампілобактерій, вважають за краще помірну температуру інкубації (37 °С), відому роль в патології людини грає *S.fetus*, часто є збудником артритів, менінгіту, васкулітів; види *S.conciscus* і *S.sputorum* розцінюються як коменсали порожнини рота, можливе, гравці ролі в патогенезі пародонтита, а види *S.fennelliae*, *S.cinaedi* і *S.hyointestinalis* зустрічаються в товстому кишківнику людини при імунodefіциті тієї або іншої природи. *Helicobacter pylori* розцінюється як етіотропний агент, що асоціюється з язво-ерозійними поразками шлунка і дванадцятипалої кишки.

Кампілобактери — грамнегативні, тонкі, спірально зігнуті палички розміром 0,2—0,3x0,5—5,0, іноді до 8,0мкм. Можуть мати один повний (або трохи більше) виток спіралі, можуть бути у вигляді С- або S форми, або нагадувати крила чайки при з'єднанні двох кліток в короткий ланцюжок. В старих культурах можуть мати коковидну або форму, що гіперспіралізувалася. Спор і капсул не утворюють, мають один-два полярно розташованих джгутика, забезпечуючих ним високу рухливість із стрімким, «штопороподібним» поступальним характером руху. Джгутики можуть бути в 2—3 рази довше за клітину. Рухливість краще видно при темнопольній або фазовоконтрастній мікроскопії. Кампілобактери добре фарбуються всіма аніліновими барвниками. Зміст Г+Ц в ДНК 30-38% мол.

*H.pylori* дещо крупніше за інші види і має форму палички у вигляді спіралі або «дуги вола» не проходить через пори фільтра діаметром 0,65мкм. Через 5-7 днів культивування клітини мають овоїдну форму. Зміст Г+Ц складає 35,8-37,1 мол%

Кампілобактерії є хемоорганотрофами. Будучи термофілами, здібні до росту при 37—44 °С, але не при 25 °С. Більшість кампілобактерій є мікроаерофілами і капнофілами, тобто вимагають для культивування зниженого змісту кисню і підвищеного — вуглекислого газу. Оптимальна атмосфера для культивування патогенних видів кампілобактерій має наступний склад: O<sub>2</sub> — 5%, CO<sub>2</sub> — 10%, азот — 85%. Деякі кампілобактерії при вирощуванні можуть виявляти себе як облігатні анаероби. Енергію кампілобактерії звільняють з амінокислот і трикарбонних кислот, але не з вуглеводів, до окислення і ферментації яких не здібні.

Для культивування кампілобактерій частіше використовують спеціальні живильні середовища, в основу яких покладені середовища для виділення бруцелл. Проте в ці середовища необхідно добавляти речовини, які підвищують аеротолерантність кампілобактерій і знижують окислювально-відновний потенціал середовища (кров, тіогліколат натрія, метабісульфіт натрія, піруват натрія, сульфат окисного заліза). Звичайно використовують м'ясні, печінкові, кров'яні середовища, часто в них добавляють антибіотики (новобіоцин, циклогексамід, бацитрацин, триметоприм) для придушення супутньої мікрофлори. На живильних середовищах зростання кампілобактерій спостерігається звичайно через 2-4 доби. На рідких живильних середовищах спостерігається дифузне помутніння з важкорозчинним виразимим осадом. На напіврідких середовищах вони зростають у вигляді дифузного каламутного кільця завтовшки 1-4 мм під поверхнею середовища. Якщо кампілобактерії ростуть в умовах суворого анаеробіозу, наголошується помутніння всього середовища.

На щільних середовищах з кров'ю кампілобактери утворюють два типи колоній: а) округлі неправильної форми, з рівними краями, діаметром 2-8мм, безбарвні або світло-сірі, прозорі, гомогенні (нагадують краплі води), при тривалому культивуванні можуть придбавати сріблясто-матовий відтінок; б) колонії правильної округлої форми, з рівними краями і діаметром 1-2мм, з блискучою опуклою поверхнею, прозорі, гомогенні, в старих колоніях центр є більш щільним, ніж периферія, і може утворюватися жовтий пігмент. Консистенція колоній є нев'язкою, зона гемолізу є відсутньою.

Кампілобактери оксидазопозитивні, желатин і сечовину не гідролізують, реакції з метиловим

червоним і Фогеса-Проскауера негативні. Вони продукують цитохромоксидазу, не ростуть на середовищі Ресселя; по здатності утворювати каталазу діляться на 2 груп: каталазопозитивні (*C.fetus*, *C.jejuni*, *C.coli*, *H.pylori*) і каталазонегативні (*C.sputorum* і *C.conciscus*). Різні їхні види можуть або не можуть: утворювати сірководень, рости у присутності 1% і 3,5% NaCl, діамантового зеленого, налідиксової кислоти, цефалотина, гідролізувати гіпурат натрія, утворювати пігмент жовтого кольору. На підставі вивчення цих властивостей будується міжвидова диференціація.

**Таблиця. Властивості деяких видів родів *Campylobacter* і *Helicobacter***

Вигляд	Окси-даза	Ката-лаза	Рухли-вість	Зростан-ня при 26 °С	Зростан-ня при 37 °С	Зростан-ня при 42 °С	Гіппу-рат Na	Цефа-золин	Уреаза	Ріст на середовищі Ресселя та на простому середовищі
<i>C. fetus</i>	+	+	+	+	+	-	-	Ч	-	-
<i>C.jejuni</i>	+	+	+	-	+	+	+	У	-	-
<i>C.coll</i>	+	+	+	-	+	+	-	У	-	-
<i>C.lari</i>	+	+	+	-	+	+	-	У	-	-
<i>H.pylori</i>	•f	+	+	-	+	?	-	Ч	+	-

Примітка: + — позитивна ознака, - — негативна ознака; > — непостійна ознака, У — стійкий, Ч — чутливий

*H.pylori* — лофотрих або монотрих, іноді в популяції є присутньою обидві форми. На агарових середовищах малорухливий або нерухомий. Росте на середовищах для кампілобактерій, але перевагу віддає шоколадному агару, утворюючи на ньому колонії діаметром 0,5-1мм. На 10%-вому кров'яному агарі спостерігається слабкий гемоліз. Для росту необхідні мікроаерофільні умови, або атмви, збагачені CO<sub>2</sub>. В умовах аеробів або анаеробних не росте.

*H.pylori* оксидазо- і каталазопозитивна; сірководень не утворює, гіпурат не гідролізує, має уреазу. Стійкий до хлориду трифенілтетразолія в концентрації 0,4—1,0 мг/мл; стійкий до 0,1% розчину селеніта натрія, у меншій мірі — до 1% гліцина.

Кампілобактерії мають O-, H- і K-антигени. *C.jejuni* і *C.coli*, найбільш часто викличні захворювання у людини, серологічно гетерогенні. В зарубіжній літературі описано 55 серогруп, розрізняються по термостабільному O-антигену. Встановлено, що штами, виділені від людини, дають реакцію аглютинації тільки з сироваткою від людей, а сироваткою від імунізованих тварин вони не аглютинують; можна передбачити, що йде формування «людських» штамів.

Кампілобактерії володіють складним комплексом термостабільних і термолабільних чинників патогенності. Клітинна стінка містить ендотоксин, дія якого нагадує дію ендотоксину сальмонелл і ієрсиній. Деякі штами здатні продукувати ентеротоксин, дія якого нагадує дію холерогена, а також властивий тільки кампілобактеріям цитотоксин унікальної будови, дія якого на слизову оболонку товстої кишки людини призводить до змін дизентерієподібного характеру.

При кімнатній і, особливо, при зниженій температурах резистентність кампілобактерій до дії чинників зовнішнього середовища вельми висока — в харчових продуктах, водопровідній і стічних водах, молоці, сечі, випорожненнях вони можуть зберігати життєздатність протягом 1-5 неділь. Кампілобактерії дуже чутливі до нагрівання понад 50 °С, дії прямого сонячного і ультрафіолетового світла і повітря, висихання, низьким і високим значенням рН середовища, чутливі до дії дезинфікуючих речовин у робочих концентраціях.

Епідеміологія. Кампілобактерії (особливо термофільні) виявляються у всіх видів диких і домашніх тварин і птахів, багато з яких є їхніми природними резервуарами

(крупна і дрібна рогата худоба, кури, шпаки, горобці, папуги та ін. ) Основним резервуаром кампілобактерій потрібно вважати сільськогосподарських тварин, додатковими — хворих людей і домашніх тварин, диких міських птахів і гризунів. Основна колія передачі інфекції — є харчовою (сире молоко, битий птах, яловичина, свинина), додаткові — водний (річкова і морська вода, забруднені випорожнення тварин) і побутовий (грубі порушення санітарно-гігієнічних норм при догляді за хворими людьми і тваринами, а також при кулінарній обробці м'ясних продуктів). Кампілобактеріозу притаманна виразима літня сезонність з майже повною відсутністю захворюваності в зимові місяці. Частіше захворювання реєструється у вигляді спорадичних випадків, зрідка — у вигляді більше або менше крупних спалахів. Після перенесеного захворювання у людей, не лікованих антибіотиками, бактерії з випорожнень виділяються достатньо довго протягом 2-5 нед, а іноді — до 10 тижнів.

Патогенез і клініка. У людей кампілобактеріоз протікає частіше у вигляді ентеритів і ентероколітів, хоча описані захворювання іншої локалізації: септицемія, ендокардит, перикардит, менінгіт, поразки зовнішньої кишкової локалізації частіше наголошуються у людей старшого віку або у хворих з резистентністю організму, що понижена.

Інкубаційний період 1-10 днів, частіше 1-5 днів. Початок захворювання частіше гострий. Звичайно спостерігається помірно виразима інтоксикація і діарея (до 10-20 раз на добу), біль в нижній частині черева. У половині випадків наголошується наявність крові у випорожненнях, рідше — обезводнення, частіше виникає і важче протікає захворювання у дітей у віці від 1 до 3 років. Патогенез і міра тягаря знаходяться в прямій залежності від чинників патогенності, що є у даного штаму кампілобактерій, а також від кількості бактерій, що попадали в організм.

У хворих з хворобою язви шлунка або дванадцятипалої кишки і з хронічними гастритами з біоптатів слизової оболонки стабільно виділяється *H. pylori* (в 60-90% випадків), що дозволяє передбачити значення ведучого даного збудника у виникненні цих захворювань.

Імунітет. Кампілобактерії високоімуногенні. Антитіла з'являються в крові в ранні терміни захворювання і в достатньо високих титрах. Титр до 1 5000 буває вже на 5-й день захворювання досягнувши максимуму, титри антитіл протягом довгого часу поволі знижуються і через місяць можуть бути ще достатньо високими.

Лабораторна діагностика. Для діагностики кампілобактеріозів використовують мікроскопічний, бактеріологічний і сірологічний методи. Мікроскопічний метод носить орієнтовний характер і може бути успішним тільки за наявності кампілобактерій в досліджуваному матеріалі (частіше у випорожненнях) у великих кількостях. Тонкий мазок випорожнень, зафіксований на вогні, фарбують 1% водним розчином головного фуксина протягом 10-20 хв., потім промивають водою оскільки для фарбування більшості інших бактерій потрібно 2-5 хв., то в мазках за 10-20 хв. встигають забарвитися звичайно тільки кампілобактерії. В нативному матеріалі вони мають характерну форму (S-образні короткі ланцюжки у вигляді «крил чайки», рідше - C-образні)

Основний метод діагностики — бактеріологічний. Матеріал для посіву — випорожнення та вміст прямої кишки, іноді — кров, а також вода, молоко, інші харчові продукти змиви з предметів та ін.. Посіви роблять на спеціальні живильні середовища, створюють мікроаерофільні умови і інкубують при 37 °С і 42 °С. Після отримання типових колоній культуру ідентифікують по сукупності ознак

Серологічний метод дослідження грає важливу роль при широкомасштабних епідеміологічних дослідженнях, але в діагностиці кампілобактеріозів його роль невелика. Реакція аглютинації ставиться з аутоштамами, можна з живою музейною культурою, але з формалінізованою культурою результати виходять більш чіткими. Найчутливішими є РІФ і ІФА. Можуть також використовуватися РСК, латекс-аглютинація, імуноелектрофорез, РТГА. Кожна з цих реакцій має певні чесноти, але проте не дозволяє достатньо надійно діагностувати кампілобактеріози.

### **3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення**

1. Знати схеми лабораторної діагностики.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати ІФА та ПЛР, проведених з метою виявлення в досліджуваному матеріалі. Знати алгоритм проведення.
3. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.
4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.

#### **3.4. Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у разі необхідності).**

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. Пояснити, які серологічні методи використовуються для ідентифікації виділених культур
5. Пояснити, які серологічні методи виконуються для діагностики захворювання

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

#### 4. Підведення підсумків

**Поточний контроль:** усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

#### **Структура поточного оцінювання на практичному занятті:**

Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

#### **Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:**

5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

#### **Список рекомендованої літератури**

##### **Основна:**

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Широбоков В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

##### **Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).



3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

#### **Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
6. Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## Практичне заняття

### Тема. Відпрацювання алгоритму лабораторної діагностики бактеріальних інфекцій

#### Перелік контрольних запитань до розділу Спеціальна мікробіологія

1. Холерні вібріони, біологічні властивості, класифікація. Патогенез холери. Специфічна профілактика. Принципи терапії. Методи мікробіологічної діагностики.
2. Кампілобактери. Хелікобактери. Принципи терапії. Методи мікробіологічної діагностики.
3. Загальна характеристика родини ентеробактерій і родів *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*. Значення в патології людини. Диференційно-діагностичні та елективні поживні середовища для первинного посіву досліджуваного матеріалу під час мікробіологічної діагностики ешерихіозів, сальмонельозів, шигельозів.
4. Ешерихії, їхні властивості, роль у нормі та за патології. Патогенні серовари ешерихій (ЕПКП, ЕІКП, ЕТКП, ЕГКП). Мікробіологічна діагностика ешерихіозів.
5. Шигели, біологічні властивості, класифікація. Патогенез дизентерії. Методи профілактики. Мікробіологічна діагностика.
6. Сальмонели - збудники черевного тифу та паратифу. Біологічні властивості, антигенна структура. Патогенез захворювань. Імунітет. Профілактика і терапія. Патогенетичні засади мікробіологічної діагностики черевного тифу та паратифу А і В. Методи мікробіологічної діагностики, їх оцінка.
7. Сальмонели - збудники гострих гастроентеритів, їхні властивості. Принципи класифікації. Патогенез харчових токсикоінфекцій сальмонельозної етіології. Внутрішньолікарняні сальмонельози, мікробіологічна діагностика.
8. Псевдомонади, класифікація, біологічні властивості, методи культивування, роль у патології людини. Мікробіологічна діагностика.

#### Перелік обов'язкових практичних навичок до змістовного модулю 3, якими повинен оволодіти студент

1. Здійснити серологічну діагностику черевного тифу та паратифу. Провести облік реакції непрямой ге-маглютинації (РНГА), зробити висновок.
2. Здійснити серологічну діагностику черевного тифу та паратифу. Провести облік реакції Відаля, зробити висновок.
3. Пояснити суть бактеріологічної діагностики черевного тифу та паратифу. Здійснити облік біохімічної активності та провести серологічну ідентифікацію гемокультури, виділеної від хворого. Зробити висновок.
4. Пояснити суть бактеріологічної діагностики дизентерії. Здійснити облік біохімічної та провести серологічну ідентифікацію копрокультури, виділеної від хворого. Зробити висновок.
5. Здійснити реакцію аглютинації на склі з адсорбованими діагностичними холерними сироватками з метою серологічної ідентифікації копрокультури. Зробити висновок.
6. Здійснити облік результатів лабораторної діагностики *Helicobacter pylori*. Зробити висновок.
7. Здійснити облік результатів серологічної діагностики псевдомонад. Зробити висновок. Здійснити облік результатів

#### Список рекомендованої літератури

##### Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.

2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання., оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

**Додаткова:**

1. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
2. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
3. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
4. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
5. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
6. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
7. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
8. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
9. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
10. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
11. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
12. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).
13. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018)

**Інформаційні ресурси:**

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en/>
2. Державний експертний центр МОЗ України [www.dec.gov.ua/mtd/home/](http://www.dec.gov.ua/mtd/home/)
3. Міністерство охорони здоров'я України <http://moz.gov.ua>
4. Microbiology and immunology on-line <http://www.microbiologybook.org/>
5. On-line microbiology note <http://www.microbiologyinfo.com/>
6. Centers for diseases control and prevention [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)