

**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 3. СПЕЦІАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ.**  
**ЧАСТИНА 1**

Факультет, курс Медичний (стн), 2 курс

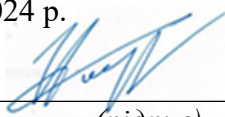
Навчальна дисципліна «Мікробіологія, вірусологія та імунологія»

**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. Методи мікробіологічної діагностики. Патогенні грампозитивні коки

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики бактерійних інфекцій в практичній діяльності лікаря. Допомогти створити у студентів уявлення про взаємодію умовно патогенних та патогенних коків з організмом людини, а також, механізми розвитку інфекційних захворювань ними спричинених. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики таких інфекцій; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування захворювань, що викликають бактерії рр. *Streptococcus*, *Staphylococcus*

**Основні поняття:** прямі та непрямі методи виявлення збудника, експрес-методи діагностики; мікроскопічний, бактеріологічний, серологічний, біологічний, алергічний методи дослідження; гнійно-запальні процеси, золотистий стафілокок - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* гемолітичні властивості, MRSA, скарлатина, бешиха, крупозна пневмонія, пухирчатка новонароджених, синдром токсичного шоку.

**Обладнання:** бланк направлення матеріалу на мікробіологічне дослідження, демонстраційні мазки-препарати, демонстраційні препарати з РЗК та РА на склі, схеми виділення чистої культури стафілококів та стрептококів, живильне середовище ЖСА зі стафілококами, результати визначення антистрептолізину-О в сироватці, демонстраційні матеріали з результатами ІФА, РІФ, РЗК, ПЛР. Лікувально-профілактичні та діагностичні демонстраційні препарати (сироватки, діагностикуми, алергени, вакцини, анатоксини, фаги, антибіотики), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі.

### 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 мікробіологічної діагностики для наступного вивчення інфекційних захворювань і практичної діяльності лікаря Стафілококи і стрептококи мають загальнопатогенетичну здатність викликати гнійно-запальні процеси. Вони уражають шкірні покриви, різні органи, спричинюють піодермії, фурункули, карбункули, захворювання дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту. Стрептококи викликають скарлатину, ревматизм, бешихове запалення, ангіну. Аналіз сучасного стану проблеми показує ріст захворювань стафілококової етіології, що може бути пояснено здатністю стафілокока адаптуватися до антибіотиків і швидко розвивати високий рівень резистентності до них.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

##### Вимоги до знань:

1. знати загальну схему мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань бактеріальної етіології;
2. методи мікробіологічної діагностики, їх застосування;
3. правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
4. режим роботи в бактеріологічній лабораторії;
5. морфолого-біологічні властивості та класифікацію патогенних коків, ознаки їх патогенності, патогенез та клінічні прояви інфекцій, що вони викликають, принципи лікування та профілактики таких інфекцій; загальну схему лабораторної діагностики інфекцій, що викликають стафілококи, стрептококи, гонококи та менінгококи.

##### Перелік дидактичних одиниць:

1. Вибір досліджуваного матеріалу, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
2. Методи мікробіологічної діагностики.
3. Класифікація стафілококів та стрептококів.
4. Морфолого-біологічні властивості *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*.
5. Лабораторна діагностика стрептококових інфекцій.
6. Морфолого-біологічні властивості
7. Профілактика стафілококових та стрептококових інфекцій

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

### **Питання:**

1. Методи мікробіологічної діагностики захворювань бактеріальної етіології.
2. Загальна характеристика групи гнійних коків. Принципи мікробіологічної діагностики гнійно-запальних процесів кокової етіології та загальні, елективні та диференціально-діагностичні живильні середовища, які використовуються для цього.
3. Стафілококи, біологічні властивості, класифікація. Чинники патогенності.
4. Патогенез стафілококових захворювань, роль стафілококів в етіології внутрішньолікарняних інфекцій.
5. Мікробіологічна діагностика.
6. Стрептококи, біологічні властивості, класифікація.
7. *Streptococcus pyogenes*. *Streptococcus pneumoniae*. Патогенез, лабораторна діагностика.
8. Препарати для специфічної профілактики та терапії.

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

На фабриці перевірили мікробіологічну чистоту таблетованих препаратів. В результаті культивування на манітол-сольовому агарі виростили золотисто-жовті колонії. При мікроскопічному дослідженні виявили грампозитивні округлі бактерії, розташовані кластерами. Мікроорганізми мали плазмокоагулазну активність. Чиста культура яких бактерій була виділена?

- A. *Staphylococcus aureus*
- B. Enterobacteriaceae
- C. *Staphylococcus epidermidis*
- D. *Staphylococcus saprophyticus*
- E. *Pseudomonas aeruginosa*

У дитини 7-ми років, який неодноразово хворів стрептококовою ангіною, лікар запідозрив розвиток ревматизму і призначив серологічне дослідження. Найявністю антитіл до якого з стрептококових антигенів найбільш вірогідно підтвердить передбачуваний діагноз?

- A. О-стрептолізин
- B. С-вуглевод
- C. М-білок
- D. Еритрогенний токсин
- E. Капсульний полісахарид

У дитини 2-х років з катаральними явищами і висипом на шкірі лікар запідозрив скарлатину. Внутрішньошкірно дитині було введено невелику кількість сироватки до еритрогенного токсину стрептококу, на місці ін'єкції висип зник. Що означають результати реакції?

У дитини підвищена чутливість до еритрогенного токсину

- A. Імунна система дитини дуже ослаблена
- B. Захворювання викликав негемолітичний стрептокок
- C. Всю дозу сироватки можна вводити внутрішньовенно
- D. Всю дозу сироватки можна вводити внутрішньом'язово

При бактеріологічному дослідженні проб сметани виділені ізолювані культури *S.aureus*. Як довести етіологічне значення ізолюваної культури *S.aureus* як збудника харчового отруєння, яке виникло серед групи споживачів сметани?

- А. Виявлення ентеротоксину
- В. Визначення гемотоксину
- С. Визначення плазмокоагулюючої активності
- Д. Визначення цукролітичних властивостей
- Е. Визначення лецитиназної активності

У приймальному відділенні лікарні відбирають матеріал для бактеріологічного дослідження. З якою метою слід взяти матеріал у хворого з гнійним ураженням глибоких тканин нижньої кінцівки?

- А. Для встановлення етіології гнійного процесу і визначення чутливості до антибіотиків
- В. Для виявлення патогенного стафілокока і визначення антибіотикограми
- С. Для виявлення збудника, щоб попередити внутрішньолікарняне інфікування
- Д. Для підтвердження анаеробної інфекції
- Е. Для виявлення токсичності збудника

У дитячому садку після вживання в їжу сиру у дітей виникло захворювання, що характеризується гострим початком, нудотою, блювотою, проносом. При мікроскопії мазків, приготовлених з сиру і блювотних мас виявлені грампозитивні мікроорганізми, розташовані в мазках у вигляді скупчень, що нагадують грона винограду. Якими будуть Ваші подальші дії по встановленню етіології цього спалаху харчової інтоксикації

- А. Додатково провести бактеріологічний метод дослідження
- В. Зробити висновок про те, що причиною захворювань став стафілокок
- С. Додатково поставити алергічну пробу
- Д. Додатково визначити фаготип стафілокока
- Е. Додатково визначити антитіла в сироватці крові

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

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

Заповнити протокол заняття в альбомі:

1. Заповнений бланк направлення.
2. Висновок про морфологію та тинкторіальні властивості збудників (малюнки).
3. Висновок про титр виявлених антитіл у РА та РЗК та оцінка результатів.
4. *Staphylococcus aureus*. Забарвлення за Грамом, малюнок
5. *Streptococcus pyogenes*. мікроскопія, малюнок.
6. *Streptococcus pneumoniae*, мікроскопія, малюнок.

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

При вивченні Gr+ коків застосовувати методи діагностики дотримуючись алгоритмів:

- мікроскопічний метод діагностики
- експрес-діагностика
- бактеріологічний метод діагностики
- біологічний метод діагностики (біопроба)
- серологічний метод діагностики
- алергічний метод діагностики

**Лабораторна діагностика грам позитивних коків**

- Матеріалом для дослідження служить гній, слиз зіва, кров. Отриманий матеріал, крім крові, бактериоскопірують. З метою визначення виду стафілокока і його патогенності роблять бактеріологічне дослідження.
- Посів проводять на чашку Петрі з молочно-сольовим агаром. Кров, при підозрі на сепсис, засівають у колби з 100мол цукрового бульйону.
- Виділену культуру досліджують для визначення її патогенних властивостей:
- Гемолітичну здатність вивчають шляхом посіву культур на чашці з 5% кров'яним агаром. Гемотоксін лізірує еритроцити і навколо колонії на агарі утворюється гемоліз.
- Для визначення наявності коагулази досліджувану культуру засівають у пробірки з цитратною плазмою кролячої крові.
- Для визначення некротичних властивостей кролику внутрішкірно вводять 0,2мол культури. Некроз настає через 1-2добы.
- Здатність до продукування токсину. До надосадової рідини, розлитої в 2 пробірки, додають 0,1мол фізрозчину в одну пробірку, в іншу – 0,1мол антистафілококової сироватки. Потім у кожен пробірку додають дві краплі суспензії кролячих еритроцитів і поміщають на 1годину в термостат. Якщо в першій пробірці має місце навіть незначний гемоліз, а в другій пробірці гемоліз відсутній – це вказує на реакцію нейтралізації токсину антитоксинами, а отже доводить, що досліджувана культура здатна продукувати токсин.

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

1. Знати схеми лабораторної діагностики Гр+ коків.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати серологічних реакцій. 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.

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 & Нелсон 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. Методи мікробіологічної діагностики. Патогенні грамнегативні коки

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики бактерійних інфекцій в практичній діяльності лікаря. Допомогти створити у студентів уявлення про взаємодію умовно патогенних та патогенних коків з організмом людини, а також, механізми розвитку інфекційних захворювань ними спричинених. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики таких інфекцій; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування захворювань, що викликають бактерії родини *Neisseriaceae*.

**Основні поняття:** прямі та непрямі методи виявлення збудника, експрес-методи діагностики; мікроскопічний, бактеріологічний, серологічний, біологічний, алергічний методи дослідження; гнійно-запальні процеси, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, гонорея, гонококовий уретрит, бленорея, менінгококовий менінгіт, менінгококцемія.

**Обладнання:** бланк направлення матеріалу на мікробіологічне дослідження, демонстраційні мазки-препарати, демонстраційні препарати з РЗК та РА на склі, схеми виділення чистої культури стафілококів та стрептококів, живильне середовище ЖСА зі стафілококами, результати визначення антистрептолізину-О в сироватці, демонстраційні матеріали з результатами ІФА, РІФ, РЗК, ПЛР. Лікувально-профілактичні та діагностичні демонстраційні препарати (сироватки, діагностикуми, алергени, вакцини, анатоксини, фаги, антибіотики), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі.

### 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 мікробіологічної діагностики для наступного вивчення інфекційних захворювань і практичної діяльності лікаря. Менінгокок і гонокок уражають сечостатеву систему, різні органи, спричиняють артрити, іридоцикліти, захворювання дихальних шляхів. Менінгококи викликають менінгококцемію, епідемічний менінгіт, що вкрай небезпечно для невакцинованих людей.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

##### **Вимоги до знань:**

1. знати загальну схему мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань бактеріальної етіології;
2. методи мікробіологічної діагностики, їх застосування;
3. правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
4. режим роботи в бактеріологічній лабораторії;
5. морфолого-біологічні властивості та класифікацію патогенних коків, ознаки їх патогенності, патогенез та клінічні прояви інфекцій, що вони викликають, принципи лікування та профілактики таких інфекцій;
6. загальну схему лабораторної діагностики інфекцій, що викликають гонококи та менінгококи.

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

1. Місце та значення мікробіологічної діагностики у комплексній діагностиці інфекційних захворювань. Принцип мікробіологічної діагностики - пряме чи опосередковане визначення збудника в організмі.
2. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
3. Методи мікробіологічної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу.
4. Морфолого-біологічні властивості менінгококів. Класифікація.
5. Патогенез менінгококових інфекцій. Мікробіологічна діагностика епідемічного цереброспінального менінгіту, менінгококкемії, назофарингіту.
6. Специфічна профілактика менінгококової інфекції (хімічна вакцина, імуноглобулін).
7. Морфолого-біологічні властивості гонококу.
8. Патогенез гонореї. Мікробіологічна діагностика гострої та хронічної гонореї та бленореї.

## **2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:**

### ***Питання:***

1. Методи мікробіологічної діагностики захворювань бактеріальної етіології.
2. Загальна характеристика групи гнійних коків. Принципи мікробіологічної діагностики гнійно-запальних процесів кокової етіології та загальні, елективні та диференціально-діагностичні живильні середовища, які використовуються для цього.
3. Менінгококи, біологічні властивості, класифікація. Патогенез та мікробіологічна діагностика менінгококових захворювань та бактеріоносійства.
4. Гонококи, біологічні властивості. Патогенез та мікробіологічна діагностика захворювань. Профілактика та терапія гонореї та бленореї.

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

З виділень уретри хворого на уретрит в'ялого перебігу виділено чисту культуру кокоподібних мікроорганізмів. Виділений мікроорганізм в короткому строкатому ряду ферментує лише глюкозу до кислоти. Назвіть рід і вид виділеного мікроорганізму:

- A. *Neisseria gonorrhoeae*
- B. *Streptococcus pyogenes*
- C. *Enterococcus faecalis*
- D. *Staphylococcus aureus*
- E. *Neisseria meningitidis*

У хворої при мікроскопії мазків, приготовлених з виділень з піхви, виявлені грамнегативні бобоподібні диплококи. Який попередній діагноз можна поставити?

- A. Гонорея
- B. Сифіліс
- C. Токсоплазмоз
- D. Мікоплазмоз
- E. Хламідіоз

У молодій жінки раптово підвищилася температура до 39°C і з'явився сильний головний біль. При огляді відзначена ригідність м'язів потилиці. Проведена спінальна пункція. У мазку із спинномозкової рідини, пофарбованому за Грамом, виявлено багато нейтрофілів і грамнегативних диплококів. Які з наведених бактерій могли бути причиною цієї хвороби?

- A. *Neisseria meningitidis*
- B. *Streptococcus pneumoniae*
- C. *Pseudomonas aeruginosa*
- D. *Staphylococcus aureus*
- E. *Haemophilus influenzae*

У дитини 3-х років в зимовий період різко підвищилася температура до 40° С. На шкірі і слизових спостерігається геморагічний висип. У крові виявлені грамнегативні мікроорганізми бобовидної форми, розташовані попарно. Який попередній діагноз можна поставити?

- A. Менінгококова інфекція
- B. Гонорея
- C. Дифтерія
- D. Грип
- E. Скарлатина

При аналізі цереброспінальної рідини дитини з симптомами гнійного запалення мозкових оболонок були виявлені грамнегативні бобоподібні диплококи. Який попередній діагноз можна поставити за результатами аналізу?

- A. Менінгіт
- B. Гонорея
- C. Холера
- D. Чума
- E. Сибірка

На спеціальному живильному середовищі, після посіву виділення гною з уретри, виростили ніжні блакитні колонії. Під час мікроскопії препаратів із них виявлено грамнегативні бобовидні диплококи. Збудником якої хвороби вони є?

- A. Гонореї
- B. Меліоїдозу
- C. Хламідіозу
- D. Туляремії
- E. Сифілісу

Бактеріолог під час дослідження слизу з носоглотки, дотримувався певних заходів щодо збереження збудників у матеріалі. Під час бактеріоскопічного дослідження встановлено наявність грамнегативних коків, що нагадують кавові зерна та розташовані парами або тетрадами. Назвіть збудника, який був виділений бактеріологом:

- A. *Neisseria meningitidis*
- B. *Staphylococcus aureus*
- C. *Neisseria gonorrhoeae*
- D. *Moraxella lacunata*
- E. *Acinetobacter calcoaceticus*

Хворій жінці поставили клінічний діагноз "гонорея". Яке з перелічених нижче досліджень можна застосувати для підтвердження діагнозу?

- A. Мікроскопія патологічного матеріалу.
- B. Зараження лабораторних тварин.
- C. Проба з бактеріофагом.
- D. Реакція гемаглютинації.
- E. Реакція іммобілізації.

У новонародженого виявляється гіперемія, набряк на слизовій рота, невеликі ерозії з в'язкими слизово-гнійними виділеннями. У мазках із виділень виявляють велику кількість лейкоцитів, що містять грамнегативні диплококи. Такі ж мікроорганізми розташовуються і поза лейкоцитами. Який можливий діагноз ви поставите?

- A. Гонококовий стоматит
- B. Вроджений сифіліс

- С. Бленорея
- Д. Токсоплазмоз
- Е. Стафілококовий стоматит

Джерелом інфекції при менінгококових захворюваннях є

- А. Тільки людина
- В. Комахи
- С. Навколишнє середовище
- Д. Д.Тварини
- Е. Е.Людина і тварини

### 3. Формування професійних вмінь, навичок:

#### 3.1 зміст завдань

**Задача 1** (Джерело Medical Microbiology 8th Edition - Patrick R Murray, Ken S Rosenthal).

Жінка, 22 років, була госпіталізована з наступними симптомами: високою температурою, ознобом та еритематозним макулопапульозним висипом на грудях, руках і ногах, що турбували її протягом 1 дня. Клінічний аналіз крові показав лейкоцитоз і підвищена ШОЕ. Посіви крові, взяті під час госпіталізації, показав ріст колоній грамотригативних диплококів через 10 годин. У цього пацієнта, швидше за все, інфекція викликана *Neisseria gonorrhoeae* або *Neisseria meningitidis*, оскільки жодна інша грамотригативна бактерія не буде так виглядати. Для того щоб визначити, яка саме бактерія є причиною цієї інфекції будуть потрібні додаткові дослідження.

**Питання 1.** *N. gonorrhoeae* та *N. meningitidis* є найважливішими представниками роду *Neisseria*. Як цей рід відрізняється від інших бактерій і які властивості росту відрізняють ці два види від інших представників цього роду?

**Пояснення.** Жоден інший рід бактерій не схожий на *Neisseria*, які виглядають як маленькі грамотригативні диплококи. Члени роду також є позитивними до оксидази. Ця властивість у поєднанні з морфологією дозволяє швидко поставити попередній діагноз. Непатогенні види *Neisseria* ростуть на поживному агарі; тоді коли *N. meningitidis* має змінний ріст на поживному агарі і *N. gonorrhoeae* не росте на цьому середовищі. Біохімічні властивості, зокрема здатність використовувати певні вуглеводи, такі як глюкоза та мальтоза, використовуються для диференціації цих двох видів.

Жоден інший рід бактерій не схожий на *Neisseria*, які виглядають як маленькі грамотригативні диплококи. Члени роду також є позитивними до оксидази. Ця властивість у поєднанні з мікроскопічною морфологією дозволяє швидко поставити попередній діагноз. Непатогенні види *Neisseria* ростуть на поживному агарі; тоді коли *N. meningitidis* має змінний ріст на поживному агарі і *N. gonorrhoeae* не росте на цьому середовищі. Біохімічні властивості, зокрема здатність використовувати певні вуглеводи, такі як глюкоза та мальтоза, використовуються для диференціації цих двох видів.

**Питання 2.** Які основні фактори вірулентності для кожного мікроорганізму?

**Пояснення.** Білки Pili, PorB та Opa опосередковують прикріплення та проникнення *N. gonorrhoeae* у клітини господаря. Гонококовий ліпоолігосахарид (ЛОС) стимулює вивільнення фактора некрозу пухлини, який викликає більшість симптомів, пов'язаних із захворюванням. Капсула *N. meningitidis* захищає бактерію від фагоцитозу і дозволяє бактеріям проникати в клітини господаря, де відбувається реплікація. Експресія ендотоксину (ЛОС) відповідає за клінічні прояви захворювання.

**Питання 3.** Чому вакцина проти *N. meningitidis* існує, а проти *N. gonorrhoeae* - ні? На яку серогрупу не поширюється вакцина проти *N. meningitidis* і чому це важливо?

**Пояснення.**

Капсульні білки використовуються для вакцини проти *N. meningitidis*, але *N. gonorrhoeae* не має справжньої капсули. Поверхневі білки *N. gonorrhoeae* не були корисними для виробництва вакцини. Хоча менінгококова вакцина забезпечує ефективний захист від

серотипів А, С, У і W135, серотип В не є хорошим імуногеном та не входить до складу вакцини. Це проблематично, тому що серотип В один із поширених серотипів, що “відповідають” за менінгіт або менінгококцемию в Америці та Європі.

#### **Практичні завдання:**

1. Заповнити протокол заняття в альбомі:
2. 1.Заповнений бланк направлення.
3. Висновок про морфологію та тинкторіальні властивості збудників (малюнки).
4. Висновок про титр виявлених антитіл у РА та РЗК та оцінка результатів.
5. *Neisseria gonorrhoeae* - забарвлення за Грамом, мікроскопія, малюнок
6. *Neisseria meningitidis*, – забарвлення за Грамом, мікроскопія, малюнок

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

Мікробіологічний діагноз інфекційного захворювання, що протікає в дійсний час, може бути встановлений лише на підставі виявлення в організмі хворого мікроорганізму-збудника і його ідентифікації, ретроспективний діагноз (діагноз захворювання, що було раніше) устанавлюється на підставі доказу, що мав місце раніше взаємодії мікроорганізму зі збудником.

При вивченні Гр- коків застосовувати методи діагностики дотримуючись алгоритмів:

- мікроскопічний метод діагностики
- експрес–діагностика
- бактеріологічний метод діагностики
- біологічний метод діагностики (біопроба)
- серологічний метод діагностики
- алергічний метод діагностики

#### **Критерії серологічного діагнозу:**

1. Виявлення антитіл до збудника в **діагностичному титрі**.
2. Виявлення **діагностичного приросту** титру антитіл.
3. Виявлення антитіл до збудника, які відносяться до класу **IgM**.

#### **Методи мікробіологічної діагностики менінгокової інфекції**

Для діагностики назофарингітів і виявлення бактеріоносійства досліджують слиз із носоглотки, менінгіту - ліквор, при підозрі на менінгококемию й інші форми генералізованої інф - кров. Проби з матеріалом оберігають від охолодження і досліджують негайно. З осаду спинномозкової рідини й крові виготовляють мазки, забарвлюють за Грамом і метиленою синькою. Чисту культуру менінгококів виділяють на сироваткових середов. і визначають серогрупу. Впроваджені імунологічні методи експрес-діагностики з виявлення менінгокового антигена в лікворі за допомогою імуофлюоресенції, реакції ензимічених антитіл тощо.

При мікробіологічній діагностиці менінгокової інфекції використовують бактеріоскопічне, бактеріологічне і серологічне дослідження.

Матеріалом для дослідження є відділення носової частини глотки, спинномозкова рідина, кров, зіскріб з елементів геморагічного сипу на шкірі.

Спинномозкову рідину збирають в стерильну пробирку і одразу ж сіють на живильні середовища або терміново, не припускаючи охолодження, відправляють в лабораторію, тому що менінгококи дуже чутливі до коливань температури.

Матеріал зі слизистої оболонки носової частини глотки знімають спеціальним тампоном, зігнутих під кутом. Найбільш результативнішим виявляється терміновий посів носоглоточного слизу на щільні поживні середовища.

Бактеріоскопічне дослідження спинномозкової рідини й крові дає можливість визначити наявність збудника. Якщо спинномозкова рідина має вигляд гною, то мазки готують без її попередньої обробки; при незначній мутності спинномозкову рідину центрифугують, і з осаду роблять мазки. Фарбують їх аніліновими барвниками (водний розчин загального фуксину, метиленовий синій) так як при фарбуванні по Граму формені елементи спинномозкової рідини змінюються, відмічається велика кількість артефактів. Менінгококі мають вигляд диплококів бобовидної форми, розміщених всередині цитоплазми лейкоцитів і стикаючихся ввігнутими кінцями. Часто виявляється ніжна капсула.

При менінгококцемії менінгококи можливо знайти у мазках крові. У цьому разі готують препарат товстої краплі, фарбують його 2—3 хвилини водним розчином метиленової сині без фіксації, зайву фарбу змивають проточною водою та висушують препарат на повітрі. На голубому фоні препарату виділюються окрашені в темно-синій колір лейкоцити, а проміж ними багато дрібних, темносиніх коків, розташованих у вигляді купок, парно чи по одному.

Експрес-діагностика здійснюється за допомогою реакції преципітації в гелі, зустрічного імуноелектрофорезу з груповими преципітуючими антисироватками чи радіоімунологічного методу і заснована на виявленні в спинномозковій рідині чи крові великого специфічного антигену.

Бактеріологічне дослідження. Одночасно з бактеріоскопією виконують посів спинномозкової рідини чи її осаду. Менінгокок росте на спеціальних живільних середовищах, містящих нативний білок (сироваточний бульон і агар). Краще спинномозгову жидкість сіяти після центрифугування при 35000 об/хв на протязі 5 хв. З дна беруть 0,3—0,5 мл матеріала й засівають 2—3 краплі на поверхність підігрітого живельного середовища. Посів культивують при температурі 37 °С й збільшеною місткістю CO<sub>2</sub>. Залишок спинномозкової рідини використовують для реакції зустрічного імуноелектрофорезу.

На 2-й день після інкубації при температурі 37 °С вивчають культуральні властивості. Менінгококи створюють невеликі, круглі, опуклі, прозорі колонії. В мазках, приготовлених з цих колоній, виявляють поліморфні диплококи і тетракоки. Мікроскопічна картина настільки пестра, що створює враження нечистої культури. Колонії пересівають на скісний сироваточний агар. Якщо в чашках з спеціальними середовищами ріст відсутній, культуру виділяють з спинномозкової рідини, залитої напівщільним агаром.

На 3-й день дослідження виділену культуру аглютинують менінгококовими сироватками.

В наступний час з епідеміологічною ціллю, визначають серовар менінгококів, використовую реакцію аглютинації по Ноблю. По 3 краплі густої суспензії мікроорганізмів наливають в 3 пробірки, потім туди вносять по 3 краплі нерозчиненої або розчиненої 1 : 10 менінгококової сироватки сероваров А, В і С. Суміш взбалтують на протязі 2—4 хв, після чого в кожену пробірку доливають 10—20 крапель ізотонічного розчину натрія хлориду і рахують показники.

Для визначення цукролітичної активності чистої культури роблять посів на середовища з лактозою, глюкозою, мальтозою, цукрозою, фруктозою. Менінгококи ферментують глюкозу й мальтозу з виділенням кислоти.

Для диференціації менінгокока і непатогених нейсерій (*Neisseria catarrhalis*) використовують властивість останніх - ріст на простих живільних середовищах, а також здібність створювати колонії при кімнатній температурі (22°C).

Для визначення менінгокока в крові в флакони з 50 мл бульону, містящего 0,1 % агар-агару, засівають 5—10 мл крові, взятої стерильно з вени. Через добу роблять пересів культури на сироватковий агар. Виділення і ідентифікація культур здійснюється таким же чином, як і при дослідженні спинномозкової рідини.

Для серологічної діагностики використовують РНГА з еритроцитами, сенсibilізованими групспецифічними полісахаридами.

Профілактика і лікування. Загальні профілактичні заходи зводяться до ранньої діагностики, госпіталізації хворих, санації бактеріоносіїв, карантину в дитячих закладах. З метою специфічної профілактики в період епідемічних спалахів менінгокової інф застосовують хімічну вакцину з полісахаридних антигенів серогруп А, В і С. Щеплення проводять дітям 1-7 років. Для лікування використовують пеніцилін, рифампіцин, левоміцетин та сульфаніламідні препарати, особливо сульфамонетоксин.

### **Методи мікробіологічної діагностики гонокової інфекції**

Досліджуваний матеріал - виділення з уретри, піхви, шийки матки, сеча; при бленорей - гній із кон'юнктиви ока. Основний метод діагностики - мікроскопічний. Мазки забарвлюють за Грамом і метиленою синькою. Значно рідше проводять виділення чистої культури та її ідентифікацію. При хронічному перебігу захворювання використовують РЗК або реакцію непрямой гемаглютинації.

Бактеріоскопічне дослідження є загальним методом діагностики гострої гонорей і бленорей. Матеріал для дослідження із сечовивідного каналу беруть наступним чином, наружний отвір його витирають ватою, змоченою стерильним ізотонічним розчином натрію хлориду, надавлюють пальцем на задню стінку сечовипускального каналу з середини назовні і видавлюють краплю гною. Секрет предміхурової залози одержують шляхом її масажу. Відділяємо слизистої оболонки шийки матки здобувають тампоном після введення в піхву дзеркала Куско. При бленорей відділення кон'юнктиви знімають й розподіляють на склі. Препарат фарбують щелочним розчином метиленового синього и по Граму (2 мазка). При мікроскопії гонококи мають вигляд бобовидних грамнегативних диплококів, розташованих зовніклітинно чи всередині кліток (нейтрофільних гранулоцитів) подібно менінгококам.

Окраска по Граму дозволяє диференціювати гонококи з іншими бактеріями.

У зв'язку з тим що в досліджуемому матеріалі можуть знаходитись й інші грамнегативні бактерії, схожі з гонококами, використовують прямий і непрямий методи імунофлюоресценції. При прямому методі мазки обробляють флюоресцируючими антитілами проти гонококів, при непрямому — використовують відомі мікроорганізми (гонококи) і сироватку хворого. З'єднання антитіла з антигеном стає помітним при додаванні флюоресцируючої сироватки проти глобулінів людини.

Бактеріологічне дослідження проводять у тих випадках, коли гонококи в мазках не виявляють або знаходять нетипичні, змінні форми. З огляду особливої чутливості гонококу до температурного фактора матеріал для дослідження не транспортують. Крім того, гонокок дуже чутлив до дезінфікуючих речовин, тому за 1—2 доби до посіва необхідно виключити використання хворим дезінфікуючих речовин.

Посів производять безпосередньо після отримання матеріала в чашці з асцитичним агаром або 2,5 % МПА. Для кращого росту гонококів чашки з посівами розміщують в ексикатор, де концентрація CO<sub>2</sub> досягає 10%.

Через добу інкубації посів при температурі 37 °С з'являються прозорі, з рівними краями, випуклі, слизистої консистенції колонії гонокока, нагадуючи крапли роси. Виділяють чисту культуру та ідентифікують її. Біохімічно гонокок мало активний, він розчеплює тільки глюкозу з відтворенням кислоти.

Серологічну діагностику проводять при хронічній гонорей, коли у хворого відсутні виділення і провести бактеріоскопічне і бактеріологічне дослідження не можливе. В даних випадках використовують РСК з сироваткою крові хворого. В якості антигену використовують гонокову вакцину або спеціальний антиген, виготовлений з вбитих різними засобами гонококів

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

1. Заповнити бланк напряму матеріалу на мікробіологічне дослідження.

2. Знати схеми лабораторної діагностики Гр- коків.
3. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати серологічних реакцій РЗК. Знати алгоритм проведення.
4. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.
5. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
6. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
7. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу
8. Ознайомитися з лікувально-профілактичними (вакцини, анатоксини, фаги, антибіотики) та діагностичними препаратами та інструкціями щодо застосування сироваток, діагностикумів та алергенів.
9. Вивчити демонстраційні мазки-препарати морфології Гр- коків, замалювати.

#### **3.4. матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо**

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 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. Патогенні спірохети

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики спірохетозів. Допомогти створити у студентів уявлення про морфолого-біологічні властивості спірохет, патогенез сифілісу, лептоспірозів, зворотного тифу, принципи терапії та профілактики. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики сифілісу, бореліозів, лептоспірозів; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних, серологічних та ін. досліджень.

**Основні поняття:** спірохети, Лайм-бореліоз, зворотний тиф, лептоспіроз, бліда трепонема, сифіліс, твердий шанкр, ранній та пізній вроджений сифіліс, VDRL.

**Обладнання:** схеми мікробіологічної діагностики спірохетозів, мікропрепарат блідої трепонеми, результати реакції Васермана (РЗК), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі.

### План

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

До патогенних спірохет відносяться три роди: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*, що є збудниками різних інфекційних захворювань, що зустрічаються повсюди. Сучасний лікар повинен удосконалювати методи дослідження, вивчати біологію збудників, патогенний вплив їх на організм людини, шляхи зараження та заходи боротьби з ними, враховуючи еволюційні і екологічні зміни.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

###### *Вимоги до знань:*

знати морфолого-біологічну характеристику збудників спірохетозів, патогенез, мікробіологічну діагностику сифілісу, зворотного тифу, лептоспірозів, знати сучасну таксономічну класифікацію спірохет;  
знати загальну схему лабораторної діагностики спірохет;  
знати правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;  
знати режим та вимоги роботи в мікробіологічній лабораторії;  
знати цикл розвитку збудників сифілісу, бореліозу та лептоспірозу;  
знати патогенез та клінічні прояви;  
знати принципи терапії та профілактики.

###### *Перелік дидактичних одиниць:*

1. Загальна характеристика патогенних спірохет.
2. Морфолого-біологічні властивості збудника сифілісу.
3. Патогенез сифілісу. Принципи профілактики та терапії. Лабораторна діагностика.
4. Морфолого-біологічні властивості борелій. Патогенез, принципи терапії та профілактики, лабораторна діагностика зворотного тифу.
5. Морфолого-біологічні властивості лептоспіру. Патогенез, принципи профілактики та лабораторна діагностика лептоспірозів.

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

###### *Питання:*

1. Морфологія спірохет. Перерахувати види українською і латинською. Тинкторіальні властивості

2. Біохімічні властивості спірохет.
3. Культуральні властивості спірохет.
4. Антигенна структура спірохет.
5. Резистентність спірохет по відношенню до чинників навколишнього середовища і дезинфектантів.
6. Епідеміологія захворювань спірохет (джерела інфекції, механізми, колії і чинники передачі, сприйнятливий організм, значення первинного інфікування і реінфекції).
7. Патогенез захворювань у людини (вхідні ворота, колії розповсюдження в організмі, власне патогенез).
8. Основні органи і системи, що вражаються спірохетами у людини . Особливості інфекції у новонароджених.
9. Лабораторна діагностика спірохетозів.
10. Матеріал для дослідження сифілісу, поворотного тифу, лептоспірозів – види, правила отримання.
11. Мікроскопічний метод діагностики сифілісу, поворотного тифу, лептоспірозів.
12. Лікування сифілісу, поворотного тифу, лептоспірозів. Етіотропна терапія. Вживані антибіотики. Механізм їхньої дії і побічні ефекти. Основні недоліки антибіотикотерапії.
13. Особливості профілактики сифілісу, поворотного тифу, лептоспірозів.

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

При мікроскопічному дослідженні мікропрепарату крові, забарвленого за Романовським-Гімзою, лікар виявив мікроорганізм у вигляді тонких ниток синьо-фіолетового кольору з декількома великими завитками довжиною від 10 до 30 мкм і більше. Для якого інфекційного захворювання характерна така мікроскопічна картина?

- А. Поворотного тифу
- В. Трипаносомозу
- С. Лейшманіоз
- D. Сифілісу
- Е. Лептоспіроза

На слизовій оболонці ротової порожнини жінки 20 років лікар-стоматолог помітив округлу виразку з щільним дном і рівними краями, яка нагадує твердий шанкр. Який метод діагностики слід використовувати на даному етапі захворювання, щоб підтвердити етіологію патологічного процесу?

- А. Бактеріоскопічний
- В. Бактеріологічний
- С. Біологічний
- D. Серологічний
- Е. Алергічний

У пацієнта з попереднім діагнозом "сифіліс" лаборант взяв сироватку крові для постановки імунної реакції, яка заснована на виявленні антитіл, які припиняють рух трепонем і призводять до їхньої загибелі. Яка реакція була використана для діагностики?

- А. Реакція іммобілізації
- В. Реакція нейтралізації
- С. Реакція аглютинації
- D. Реакція зв'язування комплементу
- Е. Реакція преципітації

До лікаря звернулася жінка 25 років зі скаргами на висипання в ділянці тулуба. Лікар запідозрив вторинний сифіліс. Який метод діагностики необхідно застосувати для підтвердження даного діагнозу

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

В інфекційну лікарню надійшов хворий з лихоманкою, що періодично по-вторювалася. У препараті крові (товста крапля), забарвленому за методом Романовського-Гімзи, виявлено спіралеподібні мікроорганізми з гострими кінцями синьо-фіолетового кольору. Який збудник виявлено?

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

У хворого на висоті чергового нападу лихоманки взято мазок крові, забарвлений за Романівським-Гімзою. При мікроскопії виявлено звивисті бактерії з 8-12 глибокими нерівномірними завитками. Які бактерії були виявлені?

- A. Борелії
- B. Трепонеми
- C. Лептоспіри
- D. Вібріони
- E. Спірили

При обстеженні хворого з доброякісною пухлиною в легенях поставлено реакцію Вассермана, яка виявилася позитивною на три плюси. Яка подальша тактика лікаря?

- A. Вдруге призначити реакцію Вассермана з реакцією мікропреципітації
- B. Встановити діагноз: Сифіліс
- C. Призначити мікроскопію біопсійного матеріалу з пухлини
- D. Призначити реакцію мікропреципітації
- E. Вдруге призначити реакцію Вассермана

У мікропрепараті, виготовленому з пунктату регіонарного лім-фоузла хворого і забарвленому за Романовським-Гімзою лікар виявив тонкі мікроорганізми з 12-14 рівномірними завитками з гострими кінцями довжиною 10-13 мкм блідо-рожевого кольору. Про збудника якої інфекційної хвороби може йти мова в даному випадку?

- A. Сифілісу
- B. Лейшманіозу
- C. Трипаносомозу
- D. Поворотного тифу
- E. Лептоспіроза

При обстеженні хворого чоловіка, госпіталізованого на 5-й день хвороби з проявами жовтяниці, болю у м'язах, ознобом, носовими кровотечами. При проведеній лабораторній діагностиці бактеріолог виконав темнопольну мікроскопію краплі крові хворого. Назвіть збудників хвороби:

- A. *Leptospira interrogans*
- B. *Bartonella bacilloformis*

- C. *Borrelia dutlonii*
- D. *Rickettsia mooseri*
- E. *Calymmatobacterium granulomatis*

У померлого від гострого інфекційного захворювання, яке супроводжувалося лихоманкою, жовтяницею, геморагічною висипкою на шкірі і слизових оболонках, а також гострою нирковою недостатністю, при гістологічному дослідженні тканини нирки (забарвлення по Романівському-Гімзі ) виявлені звивисті бактерії, які мають вигляд букв С і S. Які бактерії були виявлені?

- A. Лептоспіри
- B. Кампілобактерії
- C. Клостридії
- D. Вібріони
- E. Ешерихії

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

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

**Задача 1** (Джерело *Medical Microbiology 8th Edition - Patrick R Murray, Ken S Rosenthal*).

Дівчина 18 років скаржиться на біль у коліні, що почався 2 тижні тому. За 3 місяці до цього, невдовзі після відпустки у Коннектикуті, вона помітила округлу ділянку почервоніння на гомілці. Вона була приблизно 10 см в діаметрі. Протягом наступних 2 тижнів ділянка почервоніння розширилась і межі стали більш чіткими; однак висипання поступово зникли. Через декілька днів після зникнення висипу у дівчини з'явилися наступні скарги: головний біль, неможливість зосередитись та нудота. Ці симптоми також поступово зменшувалися. Біль у коліні з'явився приблизно через місяць після зникнення цих симптомів. При огляді коліна виявлено незначну чутливість та біль. Із суглобу було відкачену невелику кількість серозної рідини. В ній було виявлено підвищену кількість лейкоцитів. У сироватці крові хворого виявлено антитіла до *Borrelia burgdorferi* (титри 1:32 та 1:1024 для IgM та IgG відповідно), що підтверджує клінічний діагноз артрит Лайма.

**Питання 1.** Які початкові та пізні прояви хвороби Лайма?

**Пояснення.** Початок ранніх стадій хвороби Лайма характеризується невеликою плямою (як правило, на місці укусу кліща), що збільшується протягом наступних кількох тижнів. Виразка із щільними, валикоподібними краями та чистим дном, хоча також може спостерігатися еритема, утворення везикул або некроз. Цей висип (мігруюча еритема \*мігруюча оскільки можуть розвинути додаткові ураження) супроводжується нездужанням, втому, головним болем, лихоманкою, ознобом, болями в опорно-руховому апараті, міалгіями та лімфаденопатіями. Ці ознаки та симптоми можуть прогресувати у невилікуваних пацієнтів і включати серцеву дисфункцію(наприклад, блокаду серця, міоперикардит, застійну серцеву недостатність) та неврологічні ознаки (наприклад, лицьовий параліч, менінгіт, енцефаліт). Пізні прояви хвороби Лайма зазвичай проявляється у вигляді артриту з періодичним ураженням одного або кількох суглобів.

**Питання 2.** Які обмеження наступних діагностичних тестів на хворобу Лайма: мікроскопія, посів та серологія? Як вони співвідносяться з діагностичними тестами для інших рецидивуючих лихоманок?

**Пояснення.** Лабораторне підтвердження клінічного діагнозу хвороби Лайма є проблематичним. Відносно небагато мікроорганізмів присутні у крові та тканинах інфікованих пацієнтів, тому мікроскопія не має практичного значення. Бак. посів вимагає використання спеціалізованих середовищ і є чутливим лише на початковій стадії мігруючої еритеми; однак це ураження є патологічним, тому лабораторне підтвердження не потрібне. Клінічна дилема діагностики полягає в тому, що у пацієнта артрит і в анамнезі немає ранніх проявів хвороби Лайма. На цьому етапі культури незмінно негативні. Тести ампліфікації нуклеїнових кислот також нечутливі. Серологічні тести у пацієнтів з пізніми

проявами захворювання зазвичай сильно позитивні, якщо пацієнт не отримував курс антимікробної терапії. Однак на ранніх стадіях захворювання серологія менш надійна. Перехресні реакції можуть виникати, але переважно у пацієнтів з іншими спірохетними захворюваннями, такими як сифіліс. Наявність борелій в крові хворого в першу чергу ставить лабораторний діагноз поворотної лихоманки.

**Питання 3.**

Назвіть по два приклади нетрепонемних і трепонемних тестів на сифіліс. Яких реакцій на ці тести ви очікуєте у пацієнтів з первинним, вторинним і пізнім сифілісом?

**Пояснення.**

Лабораторна діагностика сифілісу найчастіше проводиться за допомогою чутливого скринінгового нетрепонемного серологічного тесту та підтверджується більш специфічним трепонемним тестом. Тест VDRL і тест RPR є прикладами нетрепонемних тестів, а тест FTA-ABS і тест TP-PA є прикладами специфічних трепонемних тестів. Нетрепонемні тести мають чутливість від 75% до 85% для пацієнтів з первинним сифілісом і майже 100% для пацієнтів з вторинним і латентним сифілісом. Чутливість цих тестів нижча ( $\approx 70\%$ ) для пацієнтів із пізніми проявами сифілісу. Чутливість трепонемних тестів становить приблизно 85% для первинного сифілісу і майже 100% для всіх інших стадій, включаючи пізній сифіліс.

**Питання 4.** Які є резервуари та переносники сифілісу, епідемічної та ендемічної поворотної гарячки, хвороби Лайма, лептоспірозу?

**Пояснення.** Резервуаром сифілісу є людина. Передача відбувається або через статевий контакт, або вроджена. Контакт із зараженою кров'ю зараз є рідкісним явищем. Ендемічна поворотна лихоманка — зоонозне захворювання, основними резервуарами якого є гризуни, дрібні ссавці та м'які кліщі. Переносниками цієї хвороби є інфіковані кліщі. Резервуаром епідемії або рецидивуючої лихоманки, що передається вошами, є люди, причому від людини до людини поширюється через інфікованих вошей. Основними резервуарами хвороби Лайма в Сполучених Штатах є білоногі миші та білохвостий олень. Тверді кліщі є переносниками. Резервуарними господарями лептоспір є гризуни та інші дрібні ссавці. Хвороба передається людям через контакт із забрудненою сечею водою або професійний контакт із зараженими тваринами.

**Практичні завдання:**

- Заповнити протокол заняття в альбомі: здійснити мікроскопію демонстраційних мікропрепаратів та замалювати.
- Розглянути та охарактеризувати результат РЗК за Васерманом, занотувати результат в протоколі.

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

**Мікробіологічна діагностика сифілісу**

*проводиться з урахуванням патогенезу і періоду захворювання.*

Мікроскопічне дослідження дозволяє знайти збудник сифілісу у відокремлюваному виразки, ерозій, чи папул пунктатів з регіонарних лімфатичних вузлів. Виробляється мікроскопія препаратів «роздавлена» крапля – темнопольна, фазовоконтрастна, мікроскопія мазків, пофарбованих по Романовському-Гимзе. Бліду трепонему необхідно диференціювати від непатогенних представників цього роду, що живуть на зовнішніх полових органах і порожнині рота, що значно грубіше і відрізняються по характері руху і кількості завитків.

Через 2-3 тижні після появи твердого шанкеру стає позитивними серологічні реакції. (серопозитивний період).

Для серологічного дослідження використовується реакція Вассермана, осадові реакції: Кана і Закса-Витебського (цитохолева), реакція мікропреципітації, реакція іммобілізації трепонем, НРИ, ИФА.

Таблиця 1. Схема постановки реакції Вассермана (при обсязі 2,5мл)

Інгредієнти	Пробірки			
	1	2	3	4(контр)
Інактивована випробувана сироватка, мл	0,1	0,1	0,1	0,1
Фізіологічний розчин, мл	0,4	0,4	0,4	0,9
Антиген №1, розведений по титрі, мл	0,5	-	-	-
Антиген серії №2, розведений по титрі, мл	-	0,5	-	-
Антиген серії №3, розведений по титрі, мл	-	-	0,5	-
Комплемент у робочій дозі, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
У термостаті 45 хвилин				
Гемолітична система (сенсibilізована 30хв при 37°С) мл	1,0	1,0	1,0	1,0
У термостаті 40-60хв у залежності від настання гемолізу в контролях				
Облік гемолізу				
Облік реакції				

Облік: /++++/, /+++/, /++/- реакція позитивна (затримка гемолізу)

/-/- негативна

#### **Мікробіологічна діагностика зворотних тифів.**

Основним методом є бактеріоскопічний – виявлення збудника в крові хворого. У хворого під час приступу з пальця беруть кров і готують препарат товстої краплі і мазок. Офарблюють по Романовському-Гимзе. У препараті товстої краплі відбувається гемоліз (барвник розведений дистильованою водою). Борелії мають вид тонких ниток синьо-фіолетового кольору з декількома великими завитками. При великій кількості боррелій спостерігається їхнього скупчення, що важко відрізнити від ниток фібрину. У такому випадку мікроскопіюють осад.

*Біологічне дослідження* проводиться для підтвердження діагностики кліщового поворотного тифу. 0,5-1,0мол цитратної крові хворого вводять підшкірно морським свинкам. Через 5-6 днів у крові у тварин з'являється велика кількість боррелій. Збудник епідемічного поворотного тифу не патогенний для морських свинок.

#### **Лабораторна діагностика лептоспірозів.**

*Бактеріоскопічне дослідження.* До 5<sup>го</sup> дня хвороби лептоспіри можна знайти в крові. 2-3мол венозної крові змішують з 2-3мол 2% цитрату натрію, центрифугують. З осаду готують препарат роздавленої краплі. При мікроскопії виявляють рухливі лептоспіри, що мають вторинні завитки, що передають їм вид букви S. Досліджують також сечу, СМР, фрагменти органів трупа.

*Бактеріологічне дослідження.* Матеріал для дослідження: кров, сеча, СМР. Живильні середовища . Використовуються рідкі середовища: сироваткове середовище, без сироваткове середовище – Фрворта-Вольфа. Посіви культивують при t 28-30°С в плінні 10днів. Ріст лептоспіроз візуально не визначається. Середовище залишається прозоре. Для виявлення росту, готують препарат роздавленої краплі, мікроскопірують у темному полі. У позитивному випадку роблять пересівання у свіже живильне . Посіви інкубірують 7-10 днів при t 28-30°С. Виділені лептоспіри ідентифікують у реакції аглютинації.

*Серологічна діагностика.*

Проводиться реакція мікроскопічної аглютинації і лізису. Антитіла виявляються з другого тижня захворювання і досягають максимуму на 14-17 день. Реакцію ставлять з розведеннями сироватки крові хворого від 1:10 до 1:1000. Використовують живі діагностичні штами лептоспір. У кожен пробірку вносять 0,2мол розведені сироватки і 0,2мол діагностікума. Інкубірують у термостаті в плінні 1 години, потім з кожної пробірки готують препарат роздавленої краплі і мікроскопірують у темному полі. У позитивному



випадку спостерігається лізис лептоспір у перших розведеннях, у наступних – аглютинація. Діагностичний титр 1:100 і вище.

Біологічне дослідження на морських свинках, кроликах, щенятах у віці від 2<sup>x</sup> до 4<sup>x</sup> тижнів. Цитратну кров, осад сечі, досліджувану культуру уводять внутрібрюшинно чи підшкірно. При наявності в матеріалі лептоспір через 5-7 днів у тварин з'являється лихоманка, желтушність видимих слизуватих, через кілька днів тварини гинуть. Лептоспири виявляються в печінці, бруньках, легень, надниркових залозах і ін. органах.

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

1. Дослідити схеми мікробіологічної діагностики спірохетозів.
2. Розглянути та замалювати мікропрепарат блідої трепонеми.
3. Вивчити та замалювати морфологію борелій та лептоспір за таблицями.
4. Оцінити результат реакції Васермана

### **3.4. Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести**

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:**

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. Патогенні клостридії

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти знання про основні біологічні властивості патогенних клостридій та інших патогенних анаеробів. Допомогти створити у студентів уявлення про механізми розвитку інфекційних захворювань ними спричинених – правця, газової анаеробної інфекції, ботулізму. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики таких інфекцій; навчити інтерпретації результатів мікробіологічних досліджень, специфічної профілактики та лікування захворювань, що викликають *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Cl. botulinum*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium novyi* та ін.

**Основні поняття:** правець, газова анаеробна інфекція, ботулізм, псевдомембранозний коліт, нейротоксини, тетаномпазмін, тетаногемолізін, ботулотоксин, раньова інфекція, харчова токсикоінфекція, антитоксична сироватка, метод Безредки, біопроба.

**Обладнання:** схема мікробіологічної діагностики анаеробної інфекції, демонстраційні препарати мазків *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Cl. botulinum*, схема постановки реакції визначення токсину ботулізму за методом С.М.Мінервіна, таблиці, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі.

### План

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

Патогенні анаероби володіють загально-патогенетичною здатністю спричинювати запальні процеси. Вони уражають м'язову систему, нервову систему, різні органи, спричинюють ураження мікроциркуляторного руслу. Правець є дуже розповсюдженою й небезпечною, смертельною хворобою. Аналіз сучасного стану проблеми показує ріст захворювань, що їх спричинено патогенними анаеробами, що може бути пояснено надзвичайно широким поширенням цих мікроорганізмів в природі, травматичністю серед населення с забрудненням ран ґрунтом.

*C. botulinum* має здатність викликати процеси з вибірконим ураженням нервової тканини. Вони спричинюють типову харчову токсикоінфекцію (або інтоксикацію). Аналіз сучасного стану проблеми показує, що захворюваність на ботулізм може бути пояснена порушенням правил санітарної безпеки при готуванні харчових продуктів

#### 2. Контроль опорних знань:

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

##### *Вимоги до знань:*

1. Знати морфолого-біологічні властивості, антигенну структуру патогенних анаеробів;
2. Знати загальну схему лабораторної діагностики газової анаеробної інфекції, правця, ботулізму;
3. Знати патогенез газової анаеробної інфекції, правця, ботулізму, принципи терапії;
4. Знати профілактику газової анаеробної інфекції, правця, ботулізму.

##### *Перелік дидактичних одиниць:*

1. Загальна характеристика патогенних клостридій.
2. Етіологія газової анаеробної інфекції як полімікробного захворювання. Характеристика облигатних збудників та мікробів-асоціантів.
3. Патогенез газової анаеробної інфекції. Теорія С.М.Мінервіна про потенціюючу дію токсинів. Принципи терапії та профілактики газової анаеробної інфекції.

4. Характеристика збудника правця. Патогенез правця як токсикоінфекційного захворювання. Властивості токсину. Принципи етіотропної та патогенетичної терапії правця. Специфічна профілактика правця.
5. Морфолого-біологічні властивості клостридій ботулізму. Продукція токсину. Серовари *C. botulinum*. Патогенез ботулізму як харчової токсикоінфекції. Роботи С.М.Мінервіна та його співробітників з вивчення патогенезу ботулізму як токсикоінфекційного захворювання. Принципи терапії та профілактики ботулізму. Протиботулінічні сироватки та ботулінічні анатоксини.
6. Методи лабораторної діагностики ранової анаеробної інфекції.
7. Методи мікробіологічної діагностики ботулізму. Вибір матеріалу, що досліджується. Бактеріологічна діагностика – виділення та ідентифікація чистої культури. Біологічна проба із реакцією нейтралізації. Прискорені методи діагностики ботулізму. Прискорене визначення токсину ботулізму шляхом фагоцитарного показника за С.М.Мінервіним.

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

### **Питання:**

1. Клостридії правця, властивості, токсиноутворення. Патогенез правця. Специфічна профілактика та терапія, їх теоретичне обґрунтування та оцінка.
2. Клостридії ботулізму. Біологічні властивості, класифікація, токсиноутворення. Патогенез ботулізму як токсикоінфекційного захворювання. Специфічна терапія та профілактика. Мікробіологічна діагностика Прискорений метод діагностики ботулізму за С.М.Мінервіним.
3. Клостридії газової анаеробної інфекції, біологічні властивості. Патогенез захворювання. Роль потенційованої дії токсинів. Методи специфічної профілактики та терапії. Мікробіологічна діагностика
4. Аспорогенні анаеробні бактерії. Бактероїди, превотелли, вейлонели, пептококи, пептострептококи. Роль у патології. Мікробіологічна діагностика.

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

Після вживання м'ясної консерви у школяра з'явилися неврологічні симптоми. Був поставлений діагноз: ботулізм. Які екстрені методи лікування необхідно використати?

- А. Введення антиботулінічної сироватки
- В. Введення сульфаніломідних препаратів
- С. Введення антибіотиків
- Д. Призначення проносних засобів
- Е. Введення антиботулінічної вакцини

У бактеріологічній лабораторії досліджувалась в'ялена риба домашнього виготовлення, яка стала причиною важкого харчового отруєння. При мікроскопії виділеної на середовищі Кітт-Тароцці культури виявлені мікроорганізми, схожі на тенісну ракетку. Який діагноз встановить лікар?

- А. Ботулізм
- В. Сальмонельоз
- С. Черевний тиф
- Д. Холера
- Е. Дизентерія

У хірургічному відділенні перев'язувальні матеріали стерилізували в автоклаві. Через недогляд медсестри режим стерилізації був порушений і температура в автоклаві досягала 100° С замість належних 120° С. Які мікроорганізми можуть зберегти життєздатність в таких умовах?

- А. Бацили і клостридії

- В. Стафілококи і стрептококи
- С. Коринебактерії і мікобактерії
- Д. Сальмонели і клебсієли
- Е. Цвілеподібні і дріжджоподібні грибки

До стоматолога звернувся хворий 47-ми років зі скаргами на те, що йому важко відкривати рот (тризм). В анамнезі колота рана нижньої кінцівки. При якій інфекції можливі такі симптоми?

- А. Правець
- В. Раньова анаеробна інфекція
- С. Бруцельоз
- Д. Кашлюк
- Е. Туляремія

Отруєння ботулінічним токсином, який блокує вхід іонів кальцію в нервові закінчення аксонів мотонейронів, є небезпечним для життя, оскільки загрожує:

- А. Зупинкою дихання
- В. Зупинкою серця
- С. Виникненням діареї
- Д. Виникненням блювоти
- Е. Порушенням тону судин

Типовими проявами харчового отруєння, обумовленого *S.botulinum*, є двоїння в очах, порушення ковтання і дихання. Ці симптоми розвиваються внаслідок:

- А. Дії екзотоксину
- В. Розвитку ентеротоксичного шоку
- С. Адгезії збудника до рецепторів на ентероцитах
- Д. Дії ентеротоксину
- Е. Активації аденілатциклази

При огляді хворого з харчовою токсико-інфекцією черговий лікар виявив симптоми, характерні для ботулізму. Хворий згадав страви, які він вживав напередодні. Що з наведеного є найбільш вірогідною причиною інфікування?

- А. М'ясні консерви домашнього приготування
- В. Сметана місцевого молокозаводу
- С. Полуниця з дачної ділянки
- Д. Заварне тістечко приватного виробника
- Е. Ячня

Виділена від хворого культура бактерій НЕ РОСТЕ в присутності кисню. Відповідні умови для її зростання можна створити в:

- А. Анаеростаті
- В. Окислювальному середовищі
- С. Печі Пастера
- Д. Збагаченому сироваткою середовищі
- Е. Апараті Кротова

У лабораторії проводиться дослідження м'ясних консервів на зміст ботулінічного токсину. Для цього досвідченій групі мишей ввели екстракт з досліджуваного матеріалу і антитоксичну противоботулінічну сироватку типів А, В, Е; контрольній групі мишей ввели екстракт без противоботулінічної сироватки. Яка серологічна реакція була використана?

- А. Нейтралізації

- В. Опсоно-фагоцитарна
- С. Подвійної імунної дифузії
- Д. Преципітації
- Е. Зв'язування компліменту

У хворого після вживання м'ясних консервів домашнього виготовлення з'явилися симптоми: порушення зору, утруднення акту ковтання. Збудник якого захворювання міг послужити причиною цих симптомів?

- А. Ботулізм
- В. Холера
- С. Ешерихіоз
- Д. Сальмонельоз
- Е. Дизентерія

Після вживання м'ясної консерви у школяра з'явилися неврологічні симптоми. Був поставлений діагноз: ботулізм. Які екстрені методи лікування необхідно використати?

- А. Введення антиботулінічної сироватки
- В. Введення сульфаніломідних препаратів
- С. Введення антибіотиків
- Д. Призначення проносних засобів
- Е. Введення антиботулінічної вакцини

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

#### **3.1. зміст завдань**

**Задача 1** (джерело *Medical Microbiology 8th Edition - Patrick R Murray, Ken S Rosenthal*).

Жінка, 61 рік, звернулася до відділення швидкої допомоги з болем у лівій частині лица. Вона не могла відкрити рот через спазм лицевих м'язів; також не могла їсти протягом 4 днів через сильний біль у щелепі. Її лікар помітив тризм і сардонічну посмішку. Пацієнтка повідомила, що за 1 тиждень до звернення вона отримала колоту рану пальця ноги під час прогулянки в саду. Вона очистила рану та витягнула маленькі шматочки деревини з неї, але вона не звернулася за медичною допомогою. Хоча в дитинстві вона була щеплена проти правця, вона не робила ревакцинацію з 15 років. Поставлено ймовірний діагноз – правець.

**Питання 1:** Як підтвердити цей діагноз?

**Пояснення:** Діагноз правця ґрунтується на клінічній картині та анамнезі (наприклад, історія проникаючого поранення у неімунної особи). Лабораторні тести, які можуть бути використані для підтвердження діагнозу, включають мікроскопію (корисно, якщо позитивний результат, але, як правило, організми не спостерігаються в рані) і посів (відносно нечутливі, оскільки організми надзвичайно чутливі до кисню). Серологія не ефективна (антитіла до токсину не виробляються).

**Питання 2:** Порівняйте механізм дії токсинів, що виробляються *Clostridium tetani* і *Clostridium botulinum*.

**Пояснення:** Тетаноспазмін та ботулотоксин є А-В токсинами. В-субодиниця тетаноспазмину зв'язується зі специфічними рецепторами сілової кислоти та сусідніми глікопротеїнами на поверхні рухових нейронів. Потім комбінований токсин проникає в ендосомальні везикули і транспортується в аксоні нейрона до соми рухового нейрона, розташованої в спинному мозку. У цьому місці ендосома окислюється, що призводить до зміни конформації в ланцюзі В, що полегшує транспортування ланцюга А в цитозоль клітини. Ланцюг А - ендопептидаза, яка розщеплює білки, що регулюють інгібіторні нейромедіатори гліцин і гамма-аміномасляну кислоту. Це призводить до нерегульованої збудливої синаптичної активності рухових нейронів. Ботулотоксин також зв'язується зі специфічними рецепторами сілової кислоти та глікопротеїнами на поверхні рухових нейронів (інші мішені, ніж тетаноспазмін) і інтерналізується. Ботулотоксин залишається в

ендосомі в нервово-м'язовому з'єднанні (на відміну від шляху до спинного мозку), де після окислення ланцюг ендопептидази А інактивує білки, які регулюють вивільнення ацетилхоліну. Оскільки ацетилхолін не виділяється, нейротрансмісія блокується, що призводить до млявого паралічу.

**Задача 2:** В інфекційну лікарню надійшов чоловік 42 років. Діагноз: ботулізм. Для дослідження узяті промивні води шлунка, кров, сеча, випорожнення хворого. Ваша тактика?

**Пояснення.** Провести дослідження для виявлення ботулінічного токсину і його типування шляхом постановки біологічної проби. Необхідно ввести полівалентну (або моно валентну, коли відомий тип токсину) противоботулінічну сироватку.

**Задача 3:** Як можна пояснити, що при правці спостерігаються дискоординовані м'язові скорочення та судоми?

**Пояснення:** Тетаноспазмін – екзотоксин клостридій правця - блокує функцію тормозних нейронів еферентної ланки синаптичних дуг, тому імпульсація, що поступає на м'язи є дискоординованою.

### **Практичні завдання.**

1. Студент має вміти:
2. проводити забір матеріалу для дослідження
3. провести бактеріоскопічне і бактеріологічне дослідження у разі правця, ботулізму, газової гангрені, трактувати результати.

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

### **Мікробіологічна діагностика газової анаеробної інфекції**

*Досліджуваний матеріал* — уражені і некротизованні тканини, узяті на межі із здоровими, ексудат, гній, відокремлюване ран, кров. Від трупів беруть відокремлюване ран, шматочки змінених м'язів, кров з серця, шматочки селезінки і печінки. При харчових токсикоінфекціях досліджують блювотні маси, промивні води шлунку, кал, кров, залишки їжі.

*Бактеріологічне і біологічне дослідження.* Матеріал офарблюють за Грамом, вивчають, звертаючи увагу на наявність грубих грампозитивних спорових паличок або окремих спор, а потім сіють на казеїнові або м'ясні рідкі і щільні середовища (кров'яний агар, середовище Вільсона — Блера). Посіви культивують в анаеростаті, а стовпчики з середовищем в термостаті при температурі 37 °С.

З посівів готують препарати, офарблюють їх по Граму, враховують характер зростання на рідких живильних середовищах і пересівають матеріал на щільні середовища.

Фільтрати культур або центрифугати перевіряють на наявність токсину в дослідах на мишах або морських свинках і використовують для проведення реакції нейтралізації з діагностичними сироватками.

*Характер зростання на щільних живильних середовищах враховують на 3-й день.* Петлею відбирають колонії і засівають стовпчиком в агар, що містить 0,5 % глюкози. Визначають морфологію виділених бактерій, їхню рухливість, здатність зброджувати вуглеводи, змінювати колір лакмусового молока, розріджувати желатин, згорнуту сироватку або яєчний білок. Крім того, досліджують токсигенність виділених бактерій на лабораторних тваринах і методом люмінесцентної мікроскопії. Для цього колонію емульгують на предметному склі в краплі акридинового оранжевого, покривають покривним склом і вивчають в иммерсионной системі люмінесцентного мікроскопа. Наявність тільки зелених паличок указує на присутність токсигенних особин. Червоні або зелені з червоними фрагментами палички свідчать про слабку токсигенність бактерій або її відсутності.

*Для прискореної діагностики* досліджуваний матеріал центрифугують, і з центрифугатом проводять реакцію нейтралізації із специфічними антитоксичними сироватками.



До швидких методів діагностики відносяться також виявлення лецитинази у фільтратах і нейтралізація її типоспецифічними сироватками.

Матеріал центрифугують, розводять изотоническим розчином натрія хлориду 1 : 2, 1 : 4..., додають активатор (0,005 М CaCl<sub>2</sub>) і 1 мл кожного з розведень змішують з 0,1 мл типоспецифічної сироватки. Суміш інкубують 40 мін, а потім додають 0,2 мл лецитовителліна і знов поміщають в термостат при температурі 37 °С на 2 ч.

Контролем служить та ж суміш, тільки без сироватки. В контролі фільтрат лецитиназоположительного мікроорганізму — *Cl. perfringens* утворює помутніння і опалесценцію, в пробірках з сироваткою цих змін немає.

*Лабораторна діагностика харчових токсикоінфекцій, викликаних Cl. perfringens, проводиться також, як і збудників анаеробної інфекції.*

Для прискорення діагностики дослідження проводять по наступній схемі.

1. Матеріал прогривають протягом 15 мін при температурі 80 °Із, засівають в знежирене молоко, що містить 0,5 % глюкоза, і культивують при температурі 37 °З.

Через декілька годин за наявності *Cl. perfringens* відбувається пептонізація молока.

2. Після утворення згустка сироватку центрифугують і вводять 0,5—1,0 мл всерединіочеревинний білим мишам.

За наявності токсину проводять реакцію нейтралізації тільки з сироваткою супроти *Cl. perfringens* типу А. Паралельно визначають токсин в сироватці, обробленій трипсином (протеолитическая активація токсину).

Мікробіологічна діагностика харчової токсикоінфекції *Cl. perfringens*

Матеріалом для дослідження служать залишки їжі, від хворого — блювотні маси, кал, кров при анаеробному сепсисі, від трупа — кров, шматочки внутрішніх органів.

Бактеріологічне дослідження проводять з метою виділення і ідентифікації збудника, визначення масивності обсіменіння досліджуваного матеріалу цим мікроорганізмом і типу виділяється ім токсину.

*Перший день.* Досліджуваний матеріал десятиразово розводять пептонною водою до 10-10 і переносять по 1 мл з відповідних розведень в розплавлену і охолоджену до температури 45 °С середовище Вільсона — Блера. У ряді випадків засівають матеріал в кров'яний або жовтковий агар, який розливають в чашки. Після застигання агару посів заливають 2 % МПА і інкубують 6—8 ч в термостаті при температурі 45—46°С або 20 ч при температурі 37 °С.

Крім того, гомогенати досліджуваних матеріалів сіють в рідкі живильні середовища (Кітта — Тароцці).

Посіви інкубують при температурі 37 °С. Зростання клостридій може спостерігатися через 6—8 ч. В цьому випадку подальші дослідження проводять в перший день.

*Другий день.* Підраховують колонії чорного кольору в середовищі Вільсона — Блера, відбирають пробу, де сформувалися 10—30 колоній (20—100 на чашках) і перераховують на 1 мл (ураховуючи розведення і посівну дозу).

Для отримання чистої культури після мікроскопії 3—5 колоній пересівають в середовище Китта — Тароцці і 2—3 колоній — на лакмусове молоко. Посіви витримують в термостаті при температурі 37 °З на протязі доби.

*Третій день.* Вивчають характер зростання в середовищі Китта— Тароцці. *Cl. perfringens* росте з бурхливим газоутворенням. На лакмусовому молоці з'являється характерне зброджування з проясненням сироватки і утворенням губчастого згустку цегляного кольору.

З фільтратом бульйонної культури ставлять РН для виявлення екзотоксину і визначення його типу. Постановка реакції і облік результатів здійснюється так само, як і при ботулізмі.

Діагноз вважають підтвердженим при високому обсіменінні продуктів, що викликали захворювання (10<sup>6</sup> і більш в 1 г), наявності в посівах досліджуваного матеріалу *Cl.*

perfringens типів А і З, продукції виділеними клостридіями екзотоксинів і виділенні з крові хворого штамів *Cl. perfringens* будь-якого типу (А, В, С, D, Е).

#### Діагностика правця

Клінічна картина правця настільки типова, що, як правило, бактеріологічне дослідження з метою діагностики захворювання є зайвим. Для виявлення збудника правця звичайно досліджують перев'язочний хірургічний матеріал, а також різні препарати, призначені для парентерального введення, щоб перевірити правильність стерилізації.

У випадках неясного перебігу хвороби досліджують гній, кров, шматочки тканини, що вирізали з рани, після аутопсії — органи, тканини і кров. З тканин, густого гною готують суспензії в ізотонічному розчині натрію хлориду. Вату і марлю розрізають ножицями і поміщають в живильні середовища.

Бактеріоскопічне дослідження. Виявлення в мазаннях з матеріалу, взятого від хворого або трупа, тонких довгих грампозитивних паличок з круглими термінальними спорами, викликає підозру на наявність *Cl. tetani*. Проте на підставі бактериоскоpii не можна робити висновок про присутність правцевих клостридій, оскільки в матеріалі можуть знаходитися морфологічно схожі з ними мікроорганізми: *Cl. tetanomorphum*, *Cl. paratetanomorphum* і ін.

Бактеріологічне дослідження. Досліджуваний матеріал засівають на середовище накопичення Кітта — Тароцці і витримують в термостаті протягом 3—4 днів, після чого роблять пересівання на щільні середовища для отримання окремих колоній. Після інкубації в мікроанаеростаті колонії *Cl. tetani* на кров'яному цукровому агарі мають вид дрібних павуків або росинок, а в стовпчику цукрового агару нагадують грудочки шерсті або вати.

Виділену чисту культуру ідентифікують і перевіряють її токсигенність. *Cl. tetani* утворює токсин на 4—5-й день культивування. Культуру, вирощену на середовищі Кітта — Тароцци, центрифугують і вводять 0,3—0,4 мл надосадної рідин двом білим мишам внутрішньом'язовий (у кореня хвоста). Двом контрольним мишам вводять таку ж кількість досліджуваної рідини в суміші з антитоксичною протиправцевою сироваткою після інкубації її протягом 1 ч в термостаті при температурі 37 °С. За мишей спостерігають 4—5 діб. У заражених тварин на 2—4 доби з'являються ознаки правця — ригідність хвоста і м'язів в місці введення токсину, швидко настає смерть. У контрольних мишей ці явища є відсутніми.

При введенні білим мишам досліджуваного матеріалу (паралельно з посівом) виникає така ж клінічна картина правця, як при введенні токсину.

*Виділення чистої культури Cl. tetani за методом Файлдса.* Для цієї цілі 3—4-добову культуру в середовищі накопичення прогривають протягом 1,5 ч при температурі 60 °С, після чого сіють декілька крапель в конденсаційну воду згорнутої сироватки. Посів поміщають в строго анаеробні умови. Через 1—2 діб з'являється «повзуче» зростання *Cl. tetani*, подібно зростанню *Pr. vulgaris* при посіві за Шукевічем. З верхньої частини посіву петлею пересівають культуру знов в конденсаційну воду згорнутої сироватки. Такі пересівання повторюють до отримання чистої культури.

*Прискорений метод виявлення ботулінічних токсинів за С.М. Мінервінім.*

Метод визначення фагоцитарного показника /С.М. Мінервін/ зі співробітниками, 1959/ дозволяє визначити присутність навіть невеликих кількостей токсину з одночасним установленням його типу протягом приблизно 3 годин. Метод заснований на здатності ботулінічних токсинів різко пригнічувати фагоцитарну активність лейкоцитів у зв'язку з наявністю у токсинів лейкотоксичних властивостей. Фагоцитарна здатність лейкоцитів крові хворих ботулізмом тварин знижується в залежності від ступеня отруєння в 3, 5, 10 і навіть 20 разів. У дуже важких випадках інтоксикації фагоцитарний показник може падати до нуля.

При додаванні до крові, підверненої дії ботулінічного токсину, як у пробірці, так і в самому організмі гомологічної антитоксичної сироватки фагоцитарна здатність лейкоцитів у

більшому ступені відновлюється, чого не спостерігається при додаванні гетерологічних сироваток.

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

1. Вивчити схеми мікробіологічної діагностики анаеробної інфекції.
2. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат *Cl. perfringens*.
3. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат *Cl. tetani*.
4. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат *Cl. botulinum*
5. Ознайомитися зі схемою постановки реакції визначення токсину ботулізму методом С.М.Минервина. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат фагоцитозу

### **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

**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 // 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. Бруцели. Францісели туляремії. Бацили сибірки

**Мета:** Сформувати у здобувачів вищої освіти необхідні знання щодо зоонозних та особливо небезпечних інфекцій. Допомогти створити студентам уявлення про морфолого-біологічні та патогенні властивості бруцел, францисел, бацил сибірки та ієрсиній. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики зоонозних інфекцій, навчити інтерпретації результатів досліджень; методів профілактики та лікування таких захворювань як чума, сибірка, туляремія, бруцельоз.

**Основні поняття:** особливо небезпечні інфекції, зоонози, бруцельоз, чума, сибірка, туляремія, біологічна зброя.

**Обладнання:** схеми, таблиці, фото- і відеоматеріали мікробіологічної діагностики чуми, сибірки, бруцельозу, туляремії; демонстраційні матеріали – готові мікропрепарати збудників бруцельозу, туляремії, чуми та сибірки; готова реакція Райта; обладнання для постановки реакції Хеддльсона, РА для серодіагностики туляремії та реакції термокільцепреципітації за Асколі; протичумний комплект.

### План

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

Бруцели й францисели володіють загально- патогенетичною здатністю викликати запальні процеси. Вони уражають шкірні покриви, різні органи, спричинюють ураження опорно-рухливого апарату, захворювання дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту. Це зоонозні інфекції, тобто свійські й дикі тварини відіграють значну роль у розповсюдженні бруцельозу й туляремії. Обидва захворювання можуть вести до тяжких наслідків – інвалідизації, або, навіть, загибелі хворого. Незважаючи на багаторічні проведення санітарно-ветеринарних заходів разом з вакцинацією людей, зоонозні інфекції – бруцельоз і туляремія продовжують реєструватися на території України, причому, лабораторний діагноз цих захворювань є найбільш достовірним. На території України спостерігається постійне зниження рівня захворюваності бруцельозом. Це пов'язано з заходами щодо виявлення і ліквідації бруцельозу серед тварин, знезаражуванням продуктів і сировини тваринного походження. Радикальним рішенням задачі профілактики туляремії є ліквідація її природних спалахів, комплекс загальних і специфічних заходів разом з ветеринарною службою.

Чума і сибірка – гострі зоонозні інфекційні захворювання. Чума відноситься до карантинних хвороб, на які поширюються міжнародні санітарні правила. Згідно з цими правилами у всіх країнах світу санітарно-епідеміологічною службою міністерства охорони здоров'я здійснюється санітарна охорона границь від можливого завезення цих інфекцій. Джерелом збудника чуми в природі є деякі види диких гризунів, що живуть у пустелі, степах і гірських місцевостях а також і ведучі синантропний спосіб життя (пацюка). В ендемічних районах періодично виникають епізоотії чуми. 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 Джерелом збудника сибірки є хворі тварини - велика і дрібна рогата худоба, люди, верблюди. Завдяки ретельному ветеринарному нагляду, захворюваність сибіркою зведена до спорадичних випадків. Однак проблема залишається дуже актуальною в інфекційній патології. Мікробіологічна діагностика сибірки є основним і обов'язковим методом постановки діагнозу і є основою для вирішення питань вибору методу лікування і проведення протиепідемічних заходів.

## **2. Контроль опорних знань:**

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

#### ***Вимоги до знань:***

1. Знати правила роботи з особливо небезпечним біологічним матеріалом
2. Знати морфолого-біологічні властивості бруцел, францисел, ієрсиній, *Bacillus anthracis* та їх поширення;
3. Знати загальну схему лабораторної діагностики бруцельозу, туляремії, чуми, сибірки, ієрсиніозів;
4. Знати патогенез бруцельозу, туляремії, чуми, сибірки, ієрсиніозів,
5. Знати особливості специфічної та неспецифічної профілактики бруцельозу, туляремії, чуми, сибірки, ієрсиніозів;
6. Знати принципи терапії бруцельозу, туляремії, чуми, сибірки, ієрсиніозів.
7. Перелік дидактичних одиниць:
8. Характеристика зоонозних інфекцій. Інфекції, на які поширюються міжнародні медико-санітарні правила (особливо небезпечні інфекції). Режим роботи із такими збудниками.
9. Морфолого-біологічні властивості збудників бруцельозу та туляремії. Класифікація.
10. Патогенез бруцельозу та туляремії як зоонозних хвороб. Клінічні прояви. Імунітет та алергія при бруцельозі та туляремії.
11. Мікробіологічна діагностика бруцельозу та туляремії (бактеріологічний, біологічний, серологічний та алергічний методи діагностики).
12. Принципи терапії та профілактики бруцельозу та туляремії.
13. Діагностичні, профілактичні та лікувальні препарати, що застосовуються при бруцельозі та туляремії.
14. Морфолого-біологічні властивості збудників чуми та сибірки.
15. Екологія збудників чуми та сибірки. Природна осередкованість чуми. Роботи Д.К.Заболотного з епідеміології чуми.
16. Патогенез та основні клінічні прояви чуми та сибірки.
17. Специфічна профілактика чуми та сибірки. Принципи терапії.
18. Мікробіологічні методи діагностики чуми та сибірки: мікроскопічний, бактеріологічний, біологічний, алергічний методи, експрес - індикація збудників.

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

1. Таксономія бруцел, францисел, ієрсиній, *Bacillus anthracis*.
2. Морфологія бруцел, францисел, ієрсиній, *Bacillus anthracis*.
3. Епідеміологія бруцел, францисел, ієрсиній, *Bacillus anthracis*.
4. Цикл розвитку бруцел, францисел, ієрсиній, *Bacillus anthracis*.
5. Патогенез та клінічні прояви захворювань.
6. Імунітет. Імунна відповідь у разі бруцельозу, туляремії, чуми, сибірки .
7. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
8. Терапія.
9. Специфічна профілактика.

### **2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:**

#### ***Питання:***

1. Класифікація. Тінкторіальні властивості. Забарвлення за Грамом.
2. Біохімічні властивості бруцел. Культуральні властивості бруцел. Особливості складу середовищ, вживаних для вирощування бруцел.
3. Антигенна структура бруцел. Значення антигенів бруцел для діагностики.
4. Токсини і чинники патогенності бруцел, стисло – їхня дія.
5. Патогенність бруцел для тварин. Значення тварин в захворюваності людини.

6. Епідеміологія бруцельозу (джерела інфекції, механізми, колії і чинники передачі, сприйнятливий організм). Резистентність бруцел по відношенню до чинників навколишнього середовища і дезінфектантів.
7. Патогенез бруцельозу у людини (вхідні ворота, колії розповсюдження в організмі, власне патогенез). Основні органи і системи, що вражаються при бруцельозі у людини – перерахувати.
8. Імунітет і алергія при бруцельозі. Значення клітинного і гуморального імунітету.
9. Лабораторна діагностика бруцельозу – перерахувати і охарактеризувати вживані методи. Матеріал для дослідження при бруцельозі – види, правила отримання.
10. Бактеріологічний метод діагностики бруцельозу. Переваги, недоліки і обмеження методу.
11. Серологічний метод діагностики бруцельозу. Реакції Райта і Хеддльсона. Проба Кумбса. – принцип постановки і обліку.
12. Алергічний метод діагностики бруцельозу (проба Бюрне) - принцип постановки і обліку.
13. Біологічний метод діагностики бруцельозу.
14. Лікування бруцельозу. Вживані антибіотики. Механізм їхньої дії і побічні ефекти. Основні недоліки антибіотикотерапії.
15. Специфічна і неспецифічна профілактика бруцельозу.
16. Морфологія збудника туляремії.
17. Біохімічні властивості *F. tularensis*. Культуральні властивості *F. tularensis*. Особливості складу середовищ, вживаних для вирощування *F. tularensis*.
18. Антигенна структура *F. tularensis*. Поняття про Vi-антиген. Значення антигенів *F. tularensis* для діагностики.
19. Токсини і чинники патогенності *F. tularensis*, стисло – їхня дія.
20. Значення тварин в захворюваності людини. Патогенез туляремії у людей. Лікування. Профілактика.
21. Лабораторна діагностика туляремії.
22. Морфологія ієрсиній.
23. Біохімічні властивості ієрсиній. Культуральні властивості ієрсиній. Особливості складу середовищ, які використовують для культивування ієрсиній.
24. Антигенна структура ієрсиній. Значення антигенів ієрсиній для діагностики.
25. Токсини і фактори патогенності ієрсиній, стисло – їхня дія.
26. Резистентність ієрсиній по відношенню до чинників оточуючого середовища і дезінфектантам.
27. Патогенність ієрсиній для тварин. Значення тварин в захворюваності людини.
28. Епідеміологія ієрсиніоза (джерела інфекції, механізми, шляхи і фактори передачі, чутливий організм).
29. Патогенез чуми у людини (вхідні ворота, шляхи розповсюдження в організмі, власне патогенез).
30. Імунітет при чумі. Значення клітинного і гуморального імунітету.
31. Лабораторна діагностика чуми – перерахувати і охарактеризувати приміняємі методи.
32. Матеріал для дослідження при чумі – види, правила отримання.
33. Бактеріологічний метод діагностики чуми. Переваги, недоліки і обмеження методу.
34. Біологічний метод діагностики чуми.
35. Лікування чуми.
36. Специфічна і неспецифічна профілактика чуми.
37. Морфологія збудника сибірки. Біохімічні властивості *B. anthracis*
38. Культуральні властивості *B. anthracis*. Особливості складу середовищ, які використовують для вирощування *B. anthracis*.
39. Антигенна структура *B. anthracis*. Значення антигенів *B. anthracis* для діагностики.
40. Токсини і чинники патогенності *B. anthracis*, стисло – їхня дія.



41. Резистентність *B. anthracis* по відношенню до чинників оточуючого середовища і дезинфектантам.
42. Патогенність *B. anthracis* для тварин. Значення тварин в захворюваності людини. Патогенез сибірки у людей. Лікування. Профілактика.
43. Лабораторна діагностика сибірки

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

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 постановці біологічної і проби пошуку в мазках-відбитках з органів тварини стрептобацил, оточених капсулою, дозволяє поставити діагноз:

- A. Сибірської виразки
- B. Бруцельозу
- C. Крупозної пневмонії
- D. Туляремії
- E. Чуми

У ветеринарного лікаря після огляду вимушено забитої корови через певний час на щоді з'явився карбункул чорного кольору. При мікроскопічному дослідженні його вмісту виявлені грамозитивні, великі, розташовані ланцюжками палички з обрубаними кінцями, які нагадують бамбукову палицю. Якому збудникові властиві вказані морфологічні і тинкторіальні властивості?

- A. *B.anthraxis*
- B. *Y.pestis*
- C. *S.perfringens*
- D. *P.vulgaris*
- E. *F.tularensis*

У сільській місцевості серед тварин виникли випадки сибірської виразки. Для попередження поширення захворювання необхідно провести масову імунізацію тварин. Який препарат необхідно використати?

- A. Живу вакцину СТІ
- B. БЦЖ
- C. АКДС
- D. Вакцину Себіна
- E. Вакцину Солка

Досить часто ґрунт може бути місцем перебування ряду патогенних мікроорганізмів. Збудники яких захворювань можуть тривалий час існувати в ґрунті?

- A. Сибірська виразка
- B. Дифтерія
- C. Дизентерія
- D. Коклюш
- E. Вірусний гепатит

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 імунофлюоресценції. 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

У лабораторію поступив матеріал (витяг тваринницької сировини) з району, де відмічені випадки сибірської виразки серед тварин. Яку серологічну реакцію необхідно застосувати для виявлення антигенів збудника в досліджуваному матеріалі?

- A. Реакцію термопреципітації
- B. Реакцію преципітації в агарі
- C. Радіоімунний аналіз
- D. Реакцію зв'язування компліменту
- E. Реакцію непрямой гемаглютинації

На шкіряний завод доставили шкіру тварин з району, де реєструється сибірська виразка (сибірка). Яка реакція застосовується для виявлення термостабільного антигену збудника сибірської виразки в шкіряній і хутряній сировині?

- A. Преципітації
- B. Аглютинації
- C. Гемаглютинації
- D. Імунофлюоресценції
- E. Зв'язування компліменту

Хворий 34 років звернувся із скаргою з приводу карбункула на обличчі. Під час огляду: нещільний, безболісний набряк підшкірної клітковини, в центрі карбункула чорний струп, по периферії висипання везикул навколо карбункула. Бактеріологічне дослідження виявило наявність нерухомих стрептобацил, які здатні утворювати капсули. Які мікроорганізми є збудниками цієї хвороби.

- A. *Bacillus anthracis*

- B. *Bacillus subtilis*
- C. *Staphylococcus aureus*
- D. *Bacillus anthracoides*
- E. *Bacillus megaterium*

При діагностиці бруцельозу не застосовують метод діагностики:

- A. мікроскопічний
- B. бактеріологічний
- C. біологічний
- D. серологічний
- E. алергічний

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

#### **3.1. зміст завдань.**

*Заповнити протокол заняття:*

1. Забарвити готові препарати збудників бруцельозу та туляремії за Грамом, мікроскопія, замальовка.
2. Поставити та врахувати реакцію Хеддльсона (якісна РА на склі для визначення присутності антитіл проти бруцел в сироватці), оцінити результат.
3. Врахувати та оцінити готову реакцію Райта (кількісна пробіркова РА для визначення кількості антитіл проти бруцел в сироватці).
4. Врахувати результат пробіркової реакції аглютинації для серодіагностики туляремії.
5. Вивчити схеми мікробіологічної діагностики чуми та сибірки.
6. Розглянути та замальовати демонстраційні препарати збудників чуми та сибірки.
7. Поставити реакцію термокільцепреципітації за Асколі для виявлення сибіркового антигену, врахувати та оцінити результат.
8. Ознайомлення із протичумним комплектом.

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

*Лабораторна діагностика бруцельозу.*

Матеріалом для бактеріологічного дослідження служать кров, спинномозкова і околосуставна рідини, випорожнення, сеча хворих людей (для виділення збудника), молоко і молочні продукти, сироватка хворого (для виявлення аглютининів). Виділення культур проводять в спеціальних лабораторіях. Вирощування продовжується до 3 - 4 тиж. і більше. Для культивування бруцел бичачого виду використовують живильне середовище, що містить 2 - 10% вуглекислоти. З метою виділення чистої культури та її ідентифікації кожні 4 - 5 днів роблять висів на скошений агар. З 10 - 12-го дня хвороби в крові хворих нагромаджується достатня кількість аглютининів, які виявляють реакціями аглютинації: розгорненою в пробірках (Райта) і пластинчатою на склі (Хеддльсона). Реакцію Хеддльсона і реакцію аглютинації з цільною кров'ю на склі використовують головним чином при масових обстеженнях на бруцельоз.

Для виявлення стану алергії з 15 - 20-го дня хвороби і пізніше застосовують алергічну пробу Бюрне з фільтратом 3 - 4-тижневої бульйонної культури (бруцелін). Для виявлення змін фагоцитарної реакції ставлять опсоно-фагоцитарну пробу. У здорових реакцію вважають виразимою при показнику 50 - 75, середньою - при 25 - 49, слабкою - при 10 - 24.

Застосовують також реакцію зв'язування комплементу, реакцію непрямой гемаглютинації, РІФ

*Лабораторна діагностика туляремії.* Унаслідок спільності симптомів з чумою, сибіркою, тифом черевним і висипним, грипом, малярією, бруцельозом діагноз важкий. Вирішальна роль в диференціації туляремії від інших хвороб належить лабораторним дослідженням.

Туляремію діагностують з урахуванням тих особливостей хвороби, які можуть бути легко і швидко виявлені лабораторним шляхом.

1. Оскільки стан алергії виникає на 3 - 5-й день хвороби, для раннього виявлення туляремії ставлять внутрішньошкірну або нашкірну пробу з тулярином. Алергічні проби бувають позитивними у реконвалесцентів і прищеплених, що потрібно мати на увазі при диференціації туляремії з іншими захворюваннями.

2. На 2-й тиждень хвороби в крові хворих нагромаджуються аглютиніни, для виявлення яких ставлять реакцію аглютинації кров'яно-краплинним і об'ємним способами. У ряді випадків реакція аглютинації може бути позитивною з діагностикумом з бруцел зважаючи на спільність їхніх антигенів з туляремійними бактеріями. Для виявлення специфічних антитіл використовується також реакція непрямой гемаглютинації, яка більш чутлива, ніж реакція аглютинації.

3. Для виділення збудника використовують біологічний метод, оскільки отримання культури безпосередньо від хворої людини майже завжди дає негативні результати. Заражають білих мишей або морських свинок матеріалом від хворих (пунктат з бубону, зіскріб з язви, відокремлюване кон'юнктиви, наліт із зівя, мокрота, кров). Біологічну пробу ставлять в спеціальних лабораторіях з дотриманням встановленого режиму. За наявності в досліджуваному матеріалі туляремійних бактерій експериментальні тварини гинуть на 4 - 12-й день. Їх розкривають, а з органів роблять мазки-відбитки і посів на згорнуте яєчне середовище. Отриману культуру піддають мікроскопічному, бактеріологічному і біологічному дослідженням. Якщо при першому зараженні морської свинки не вдалося виділити культуру, емульсією з органів тварини заражають іншу і т. п.

Лабораторну діагностику туляремії у гризунів проводять за допомогою мікроскопії мазків-відбитків з органів реакції кольцепреципітації (термопреципітації), біологічних проб. Досліджують також воду, харчові продукти, членистоногих, кровососальних шляхом застосування біологічних проб.

### ***Лабораторна діагностика чуми.***

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 зівя і мокрота при легеневої формі, кров при септицемічній формі, патологоанатомічний 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 Нікіфорова, забарвлених по Граму і метиленовим синім по Леффлеру;

2) посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища з виділенням чистої культури та її ідентифікації; для придушення супутньої мікрофлори до 100 мл м'ясо-пептонного агару додають 1 мл 2,5% розчину сульфату натрія і 1 мл насиченого спиртного розчину генціанового фіолетового, розведеного 1:100 водою, що дистильовала, а для знешкодження чумного фага в культуру перед посівом вносять 0,1 мл антифагової сироватки;

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. 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 псевдотуберкулеза. Біопроба в діагностиці чуми має вирішальне значення.

Лабораторна діагностика ієрсиніозів проводиться шляхом виділення з випорожнень хворих збудника і його ідентифікації по біохімічним властивостям, реакції аглютинації, фаголізу, а також виявлення антитіл в сироватці крові хворих постановкою реакції аглютинації і непрямой гемаглютинації. Для лікування застосовують тетрациклін, левоміцетин, патогенетичні засоби. Профілактика полягає в проведенні дератизації, захисті харчових продуктів і води від гризунів, дотриманні санітарно-гігієнічних режимів на підприємствах громадського харчування, продовольчих складах, в їдальнях і ін.

#### **Лабораторна діагностика сибірки.**

При шкірній формі досліджують ексудат карбункула, який беруть з товщі набряку на межі із здоровою тканиною, при легеневої - мокроту, при кишковій - випорожнення і сечу, при септицемії - кров.

1. Патологічний матеріал мікроскопують, мазки забарвлюють по Граму і Романовському - Гімзе. Виявлення характерних по морфології капсульних бацил, розташованих ланцюжками, дає можливість поставити попередній діагноз.

2. Для виділення чистої культури досліджувані об'єкти засівають на чашки з м'ясо-пептонним агаром і в пробірки з м'ясо-пептонним бульйоном. По характеру зростання, морфології і біохімічним властивостям виділену культуру ідентифікують з іншими схожими по морфології мікробами.

3. Експериментальних тварин (білі миші, морські свинки, кролики) заражають патологічним матеріалом, а також виділеною з нього чистою культурою. Збудник сибірки викликає загибель білих мишей через 24 - 48 г., морських свинок - на 2 - 3-ій добі. В крові та у внутрішніх органах при бактеріоскопії мазків виявляють сибіркові бацили, оточені капсулою.

Застосовують також прискорену біологічну пробу. Отриману культуру, вимагаючи ідентифікації, вводять внутрішньочеревинно білим мишам. З перитонеального вмісту через декілька годин після зараження роблять мазки. Виявлення в мазках типових капсульних бацил дозволяє дати остаточну відповідь про результати біологічної проби.

При необхідності встановити ретроспективний діагноз сибірки у випадках з негативним результатом мікроскопічного і бактеріологічного досліджень ставлять алергічну пробу.

Трупний матеріал, шкіряна і хутряна сировина, з якої важко виділити сибіркових бацил, піддають серологічному дослідженню за допомогою реакції термопретиципації (реакція Асколі).

При лабораторній діагностиці сибірки необхідно пам'ятати про мікробів, біологічно близьких до *B. anthracis*, спорових аеробів, широко поширених в природі, *B. cereus*, *B. megaterium* і ін.

Для диференціації сибіркових бацил від антракоідів та інших схожих спороутворюючих аеробів застосовують фагодіагностику. Специфічний фаг лізує тільки культури сибірки

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

1. Вивчити схеми мікробіологічної діагностики зоонозних інфекцій.
2. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат бруцел, францисел, ієрсиній, бацил.
5. Ознайомитися зі схемою постановки реакції Райта, Хеддльсона, Асколі.

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.

#### **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:***

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. Коринебактерії

**Мета:** Ознайомити студентів з основними властивостями *Corynebacterium diphtheriae*, дифтерією різних локалізацій, вивчити мікробіологічну діагностику дифтерії. вивчити основні методи мікробіологічної діагностики *Corynebacterium diphtheriae*.

**Основні поняття:** *Corynebacterium diphtheriae*, дифтерія, дифтерійний токсин, дифтерійний анатоксин, визначення токсинуотрорення *C. diphtheriae*, специфічна профілактика дифтерії, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, туберкульоз, лепра, специфічна профілактика туберкульозу, БЦЖ.

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

### План

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

Проблема дифтерії, незважаючи на значні успіхи в боротьбі з цим захворюванням у нашій країні та інших країнах світу, залишається дуже актуальною в інфекційній патології як дітей, так і дорослих. Завдяки проведенню обов'язкової планової профілактики дифтерії у дітей захворюваність дифтерією і смертність в останні роки різко знизилася. Змінилася і інтенсивність клінічних проявів цієї інфекції. Однак, останнім часом все частіше стали реєструватися випадки дифтерії не тільки у дітей, але й у дорослих, іноді з летальним результатом.

Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань з етіології, патогенезу, принципів специфічної профілактики, терапії цієї інфекції й, особливо мікробіологічної діагностики, оскільки вона є загальним і обов'язковим методом у постановці діагнозу цієї інфекції і служить загальною основою для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

##### **Вимоги до знань:**

- знати класифікацію коринебактерії дифтерії та дифтероїдів ;
- знати загальну схему лабораторної діагностики коринебактерії дифтерії;
- знати морфологію коринебактерії дифтерії та дифтероїдів;
- знати правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
- знати режим роботи в бактеріологічній лабораторії;
- знати патогенез та клінічні прояви дифтерії;
- знати принципи лікування та профілактики

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

1. Таксономія коринебактерії.
2. Морфологія коринебактерії.
3. Епідеміологія.
4. Патогенез та клінічні прояви при дифтерії.
5. Імунітет.
6. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
7. Терапія. Застосування антитоксичної протидифтерійної сироватки
8. Специфічна профілактика дифтерії.

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

### **Питання:**

1. Морфологія збудника дифтерії, його систематична назва українською та латиною.
2. Методи забарвлення, що використовуються для збудника дифтерії. Основні фарбники, що використовуються для фарбування коринебактерій дифтерії. Відношення коринебактерій до забарвлення по Граму.
3. Особливості розташування і фарбування різних частин клітини коринебактерій дифтерії і дифтероїдів.
4. Ультроструктура коринебактерій дифтерії. Апарат адгезії.
5. Культивування збудника дифтерії. Особливості складу поживних середовищ.
6. Основні середовища для культивування збудника дифтерії. Приклади елективних і диференціально-діагностичних середовищ для цього збудника.
7. Особливості росту різних біоварів збудника на щільних і рідких поживних середовищах.
8. Ферментативні властивості коринебактерій дифтерії (цистиназа, уреаза, оксидоредуктаза, протеолітична активність), методи визначення вказаних властивостей, середовища, що використовуються для цього.
9. Токсинування коринебактерій. Тип, структура та механізм дії токсину. Поняття про бактеріоцини *C. diphtheriae*.
10. Ферменти та фактори патогенності коринебактерій дифтерії. Поняття про корд-фактор.
11. Значення бактеріофагів коринебактерій (вірулентних і помірних) для властивостей збудника та діагностики.
12. Умови токсигенності коринебактерій дифтерії. Стійкість токсину до чинників навколишнього середовища.
13. Антигенна структура збудника дифтерії. Види антигенів, їх специфічність залежно від хімічної природи. Антигенна структура токсину коринебактерій дифтерії.
14. Резистентність *C. diphtheriae* до чинників навколишнього середовища і дезінфектантів.
15. Патогенність *C. diphtheriae* для диких та лабораторних тварин.
16. Епідеміологія дифтерії (джерело інфекції, механізм(и) та шляхи передачі, чутливі організми). Заразність хворих в різні періоди захворювання. Роль бактеріоносіїв.
17. Патогенез дифтерії. Можливі вхідні ворота. Механізм формування плівок.
18. Патогенез дифтерії. Залежність міцності адгезії плівок від гістологічної структури тканин. Механізм формування крупу.
19. Основні органи-мішені і танатогенез дифтерії.
20. Імунітет при дифтерії, його напруженість, спрямованість і тривалість.
21. Методи виявлення імунної перебудови організму при дифтерії. Постановка проби Шика та інтерпретація її результатів.

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

При огляді дівчинки 5-ти років лікар помітив на мигдалинах сірувату плівку. Мікроскопія мазків, забарвлених по Нейссеру, показала наявність коринебактерій дифтерії. Яка морфологічна особливість була найбільш суттєвою для встановлення виду збудника?

- A. Полярно розташовані гранули
- B. Розташування клітин збудника у вигляді частоколу
- C. Локалізація збудника усередині макрофагів
- D. Наявність капсули
- E. Наявність спор, діаметр яких перевищує діаметр клітин

У інфекційну клініку поступила дівчинка 7 років з високою температурою, скаргами на біль в горлі, загальну слабкість. Лікар запідозрив дифтерію і дав вказівку узяти матеріал із

зіву і виділити чисту культуру збудника. Виберіть, що з перерахованого є вирішальним для підтвердження діагнозу «дифтерія» після виділення чистої культури збудника?

- A. Проба на токсигенність
- B. Проба на цистиназу
- C. Гемолітична здатність збудника
- D. Фаголізабельність
- E. Виявлення у збудника волутинових зерен

Від хворого виділили чисту культуру коринебактерій дифтерії. Яку імунологічну реакцію слід використати для виявлення токсигенності бактерій?

- A. Реакцію преципітації в агарі
- B. Реакцію зв'язування компліменту
- C. Реакцію гальмування гемаглютинації
- D. Реакцію непрямой гемаглютинації
- E. Реакцію аглютинації

При огляді дитини 4 років із скаргами на загальну слабкість, біль у горлі і ускладнене ковтання лікар запідозрив дифтерію і направив матеріал у бактеріологічну лабораторію. На яке диференціально-діагностичне поживне середовище слід засіяти матеріал для виділення збудника дифтерії?

- A. Кров'яно-телуритовий агар
- B. Середовище Ендо
- C. Середовище Сабуро
- D. Середовище Левенштейна-Йенсена
- E. Середовище Плоскирева

При посіві матеріалу із зіву від хворого ангіною на кров'яний телуритовий агар вирости колонії діаметром 4-5мм, сірого кольору, радіально перекреслені (у вигляді розеток). Під мікроскопом грампозитивні палички з булавоподібними потовщеннями на кінцях, розташовані у вигляді розчепірених пальців. Які це мікроорганізми?

- A. Коринебактерії дифтерії
- B. Клостридії ботулізму
- C. Дифтероїд
- D. Стрептобацили
- E. Стрептококи

При огляді дівчинки 5-ти років лікар помітив на мигдалинах сірувату плівку. Мікроскопія мазків, забарвлених по Нейссеру, показала наявність коринебактерій дифтерії. Яка морфологічна особливість була найбільш суттєвою для встановлення виду збудника?

- A. Полярно розташовані гранули
- B. Розташування клітин збудника у вигляді частоколу
- C. Локалізація збудника усередині макрофагів
- D. Наявність капсули
- E. Наявність спор, діаметр яких перевищує діаметр клітин

Під час мікроскопії мазків, забарвлених метиленовою синькою, виявлено палички з булавоподібними потовщеннями на кінцях, схожі на *C.diphtheriae*. Який із наведених методів фарбування слід застосувати додатково для уточнення припущення, що виникло?

- A. Нейссера.
- B. Здродовського.
- C. Козловського.
- D. Ожешка.

Е. Циля-Нільсена.

Під час обстеження хворої дитини зі скаргами на болі в горлі, високу температуру, слабкість лікар виявив збільшені мигдалики з ділянками, вкритими сіруватим нальотом, який не знімається шпателем. Для виявлення ймовірного збудника захворювання було виготовлено мазок і забарвлено за Грамом. Під час мікроскопії препарату виявили велику кількість грам-позитивних паличок із потовщеннями на кінцях, які розташовувалися під кутом одна до одної. Який метод лабораторної діагностики слід застосувати для постановки остаточного діагнозу "дифтерія"?

- А. Бактеріологічний
- В. Шкірна алергічна проба
- С. РІФ
- Д. Мікроскопічний (для виявлення гранул волютину)
- Е. Серологічний

Лікар-отоларинголог у хворого відзначив гіперемію, значний набряк мигдаликів із сірим нальотом на них. Під час мікроскопії нальоту було виявлено палички, розташовані під кутом одна до одної. Про яке захворювання слід думати?

- А. Дифтерія
- В. Менінгоназофарингіт
- С. Епідемічний паротит
- Д. Ангіна
- Е. Скарлатина

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

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

##### **Задача**

Хворий 21 року поступив до інфекційного відділення на 5-й день хвороби зі скаргами на прогресуючу загальну слабкість, неприємні відчуття за грудниною, підвищення температури тіла до 38,6о С, біль у горлі, який посилюється при ковтанні.

Об'єктивно: у свідомості, адекватний. Пальпуються підщелепні лімфовузли (0,5-1см). Слизова ротоглотки набрякла, незначно гіперемована з ціанотичним відтінком. На гіпертрофованих мигдаликах визначаються плівкові нашарування, що виходять за їхні межі, при спробі зняти - кровоточать. Визначається набряк підщелепної ділянки. Дихання везикулярне. Пульс 102 уд/хв. Т - 37,8оС. Тони серця приглушені. Живіт м'який, безболісний.

1. *Попередній діагноз* Поширена дифтерія мигдаликів. Ранній міокардит

2. *обстеження:* Хворий 21 року поступив до інфекційного відділення на 5-й день хвороби зі скаргами на прогресуючу загальну слабкість, неприємні відчуття за грудниною, підвищення температури тіла до 38,6о С, біль у горлі, який посилюється при ковтанні.

3. *План дослідження:*

- бактеріологічне дослідження на патологічну флору
- РПГА з дифтерійним антигеном
- РП в гелі
- ІФА - антитіла до дифтерійного антигену класу Ig M
- мікроскопія мазка п Нейсеру
- ПЛР

1. Забір біологічного матеріалу з зіву
2. Визначення морфологічних та тінкотріальних властивостей коринебактерій дифтерії.
3. Визначення культуральних властивостей коринебактерії дифтерії.
4. Визначення біохімічних властивостей коринебактерії дифтерії.

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

#### **Лабораторна діагностика дифтерії.**

##### **Взяття і доставка матеріалу до лабораторії**

Матеріалом для дослідження є плівка з мигдаликів, дужок, піднебіння, язичка, слиз із зів та носа, рідше виділення з ока, вуха, рани, піхви, ураженої ділянки шкіри. На вимогу епідеміолога досліджують змиви з іграшок та інших предметів, деякі харчові продукти (молоко, морозиво тощо). Матеріал потрібно брати до початку етіотропного лікування натще або через 2 год після прийому їжі.

Для взяття матеріалу використовують тампони, сухі або попередньо змочені 5 % розчином гліцерину, вміщені в пробірку й простерилізовані разом з нею. Досліджуваний матеріал із ротоглотки і носа беруть двома окремими тампонами, намагаючись взяти його на межі здорової й ураженої ділянки обертальними рухами, не торкаючись тампоном слизової щік, зубів та язика, який притискають шпателем. При ларингоскопії плівку або слиз беруть безпосередньо з гортані. Плівки та слиз із рота і носа беруть обов'язково в усіх випадках, навіть при дифтерії рідких локалізацій (шкіра, рана, око, вухо, вульва).

Тампони після забору матеріалу вміщують у ті ж самі пробірки, на яких надписують номер, дату і час відбору, прізвище лікаря. Вони повинні бути доставлені до лабораторії не пізніше 3-х год після взяття матеріалу. Якщо схема забору передбачає посів біля ліжка хворого, то пробірки і чашки з посівами негайно направляють до лабораторії або інкубують при 37 °С і доставляють через 20-23 год, в холодну пору в сумках із грілками.

Бактеріоскопічне дослідження матеріалу від хворого проводять лише на вимогу лікаря і тільки для того, щоб розпізнати некротичну ангіну Симановського-Плаута-Венсана (виявлення веретеноподібних паличок і спірохет Венсана, які при звичайних методах культивування не ростуть).

Впродовж багатьох років мікроскопічне дослідження і виявлення зерен валютину, забарвлених за методами Леффлера і Нейссера, було основою лабораторної діагностики дифтерії та виявлення бактеріоносійства. Тепер, у зв'язку з мінливістю дифтерійних бактерій під впливом антибіотиків, первинна мікроскопія досліджуваного матеріалу не рекомендується.

Бактеріоскопічне дослідження проводиться з метою ідентифікації нетипових колоній на кров'яно-телуризованих середовищах та при перевірці чистоти виділених культур. Мазки забарвлюють за Грамом, Леффлером і Нейссером. Можна також фарбувати їх оцтовокислим метиловим фіолетовим, толуїдиновим синім або бентіазоловим і тіазиновим барвниками.

##### **Бактеріологічне дослідження**

Клінічний матеріал засівають на кров'яний агар і кров'яно-телуризований агар (або середовище Клауберга II), розлиті у чашки Петрі. Посів на кров'яний агар необхідний для виявлення й іншої мікрофлори. Крім того, деякі штами *S. diphtheriae* чутливі до дії телуриту калію, тому їх ріст на телуризованих середовищах може пригнічуватись. Для виявлення дифтерійного бактеріоносійства посіви роблять тільки на кров'яно-телуризований агар, оскільки в посівному матеріалі може міститись невелика кількість дифтерійних паличок, ріст яких на неселективних середовищах буде пригнічуватись іншою мікрофлорою. При цьому допускається використання і транспортного середовища.

Кров'яно-телуриновий агар. До 100 мл 2 % розплавленого й охолодженого до 50 °С живильного агару рН 7,6 додають 10-15 мл дефібринованої крові та 2 мл 2 % розчину телуриту калію. Суміш ретельно перемішують і розливають у стерильні чашки Петрі шаром товщиною 3-4 мм.

У *S. diphtheria* виділяють три біовари – *gravis*, *mitis*, *intermedius*. Бактерії біовару *gravis* - короткі, неправильної форми, з невеликою кількістю метакроматичних гранул.

Біовар *mitis* утворює довгі зігнуті поліморфні палички, що містять багато волютинових зерен (тільца Бебеша-Еріста)

Бактерії біовару *intermedius* найбільш великі з бочкоподібними контурами, для них характерні поперечні перегородки, що розділяють клітину на декілька сегментів. На даний час біовар *intermedius* відносять в групу *gravis*.

Посів від одного хворого роблять на одну чашку, використовуючи при цьому одну половину середовища для посіву із ротоглотки (мигдаликів, дужок, язичка), а другу – для посіву іншим тампоном із носа. Якщо є досліджуваний матеріал із шкіри, ока, вуха та інших локалізацій – додають ще одну чашку. Не можна засівати матеріал від кількох хворих на одну чашку. Середовища перед посівом зігрівають у термостаті 15-20 хв.

При посіві досліджуваного матеріалу його втирають тампоном спочатку в окрему ділянку кров'яного агару площею 2x1 см, потім аналогічно на кров'яно-телуритовому агарі (або середовищі Клауберга II), при цьому тампон весь час повертають, щоб засіяти з нього весь матеріал. Потім тим же тампоном штрихами засівають решту поверхні середовища (половину чашки). Така техніка посіву дозволяє отримати ізольовані колонії (чисту культуру), які використовують безпосередньо з чашки для визначення токсигенності та подальшої їх ідентифікації. Засіяні чашки або пробірки з транспортним середовищем інкубують у термостаті при 37 °С протягом 20-24 год.

На другий день за допомогою стереоскопічного мікроскопа досліджують характер колоній. Якщо ріст відсутній на обох середовищах роблять повторний забір матеріалу. Чашки з типовими і підозрілими на *S.diphtheriae* колоніями відбирають для подальшої ідентифікації культури за всіма тестами. Мікроскопію підозрілих колоній можна і не проводити.

#### **Культуральні властивості**

Колонії дифтерійних паличок на кров'яному агарі білуватого або жовтуватого кольору, непрозорі, круглої, злегка опуклої форми, діаметром 1-2 мм. Звичайно вони мають маслянисту консистенцію, хоч деякі можуть утворювати крихіткі шорсткі R-колонії.

На кров'яно-телуритових середовищах колонії *S.diphtheriae* через 24 год росту мають сірий колір, опуклі, з рівним краєм, в'язкі. Через 48 год вони набувають темносірого або чорного кольору з металевим блиском, рівними або злегка фестончастими краями, гладенькою або з радіально посмугованою поверхнею (R-форми), в'язкі чи крихіткі при дотику петлею. За структурою 48-годинних колоній на телуринових середовищах і деякими ферментативними ознаками збудника дифтерії поділяють на чотири культурально-біохімічних варіанти (біовари) – *gravis*, *mitis*, *belfanti*, *intermedius*.

Якщо типовий ріст відсутній, з інших, сумнівних, колоній готують мазки. При виявленні в них спорових паличок, коків, дріжджівта ін., дослідження на дифтерію припиняють і дають негативну відповідь. Проте, важливо пам'ятати, що дифтерійні бактерії, які утворили нетипові колонії на середовищах з інгібіторами росту (телурит калію), можуть бути вкорочені, потовщені, але зберігають поліморфізм та характерне розташування.

При рості типових колоній відразу ж приступають до вивчення їх токсигенності та ідентифікації.

На третій день при появі специфічних ліній преципітації в агаровому гелі й позитивній пробі на цистиназу виділену культуру визначають як токсигенну *S. diphtheriae*. Якщо лінії преципітації через 24 год відсутні, чашки інкубують ще на протязі доби. В разі негативної проби Пізу культуру ідентифікують як інший вид коринебактерій.

Чисту культуру на скошеному сироватковому агарі висівають на вуглеводневій середовища з глюкозою, сахарозою, розчинним крохмалем, ставлять проби на виявлення уреазі, піразинамідази та нітратредуктази.

На четвертий день роблять облік результатів усіх посівів і видають аргументований бактеріологічний висновок про виділену культуру.

Використовують такі методи ідентифікації коринебактерій.

Визначення токсигенності *in vitro*. В його основі лежить взаємодія токсину з антитоксином в агаровому гелі. В місцях оптимального кількісного співвідношення

токсину й антитоксину в товщі агару випадає преципітат у вигляді тонких ніжних білих ліній ("стріли", "вусики"). Цей тест в багатьох країнах за кордоном називають Елек-тестом.

Пробу на токсигенність, як правило, проводять із чистими культурами. Можна визначити її і з культурами, забрудненими сторонньою мікрофлорою, що на добу прискорює лабораторну діагностику дифтерії. Але при негативній пробі її повторюють з виділеною чистою культурою.

Для постановки цієї проби мікробіологічна промисловість випускає спеціальне сухе стандартне середовище для визначення токсигенності дифтерійних мікробів (ВТДМ) і стандартні паперові диски, просочені антитоксичною протидифтерійною сироваткою, і висушені.

На поверхню свіжовиготовленого середовища ВТДМ накладають паперові диски з антитоксином (не більше чотирьох на одну чашку). На відстані 0,5 см від диску навколо нього засівають культури у вигляді "бляшок" діаметром 7-8 мм, чергуючи "бляшки" досліджуваної культури і контрольного штаму.

Результати враховують через 18-24 і 48 год. Критерієм специфічності преципітатів є злиття ліній преципітації досліджуваної культури з лініями токсигенного штаму. В такому разі виділену культуру вважають токсигенною.

При відсутності стандартних паперових дисків можна використати смужки фільтрувального паперу, просочені дифтерійним антиоксином. Їх виготовляють безпосередньо в лабораторії. Нарізані за вказаними розмірами і простерилізовані в автоклаві при 121°C протягом 30 хв паперові смужки змочують 0,25 мл очищеного дифтерійного антиоксину, який містить 500 МО в 1 мл. В такому разі на чашку з відповідним середовищем накладають змочену антиоксином смужку паперу, підсушують, відкривши чашку на 15-20 хв у термостаті й перевернувши її догори дном. Після цього з обох боків смужки засівають культури "бляшками", чергуючи досліджувані і контрольні штами.

Впродовж багатьох років токсигенність дифтерійних бактерій визначали підшкірним або внутрішньошкірним введенням культури двом гвінейським свинкам, одній з яких напередодні вводять 100-1000 МО антитоксичної протидифтерійної сироватки. Тепер цей метод бактеріологічні лабораторії практично майже не використовують із-за його дороговизни та значної затримки відповіді.

Останнім часом розроблено дуже чутливий і високоспецифічний метод визначення гену дифтерійного токсину шляхом полімеризації ланцюгової реакції. Він оснований на визначенні ділянки ДНК *C. diphtheriae*, де локалізований ген дифтерійного токсину, за допомогою ДНК-полімерази. Метод має переваги перед традиційним визначенням токсигенності: високу чутливість, швидкість отримання результатів (4-6 год), не потребує виділення чистої культури.

Але для його проведення необхідні спеціальна апаратура, дорогі реактиви й відповідне приміщення, а тому може бути проведений лише в спеціалізованій лабораторії. Всі нетоксигенні штами дифтерійних бактерій, які виділені від хворих та бактеріоносіїв, необхідно направляти до Українського центру держсанепіднагляду (де є така лабораторія) для остаточного визначення токсигенних властивостей *C. diphtheriae*.

#### **Ферментативні властивості**

Визначення цистинази (проба Пізу). *C. diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis* виділяють фермент цистиназу, псевдодифтерійні бактерії та інші дифтероїди його не продукують.

Виділену культуру засівають уколом в середовище з цистином, розлите стовпчиком у вузькі пробірки. Цистиназопозитивні бактерії розщеплюють цистин із виділенням сірководню, який із оцтовокислим свинцем, що входить до середовища, утворює сірчаноокислий свинець, в результаті чого середовище забарвлюється в темно-коричневий колір. *C. diphtheriae* викликає не лише потемніння середовища по ходу уколу а й утворює навколо нього "хмаринку" темно-коричневого кольору на відстані 1 см від поверхні.

Результати враховують через 20-24 год інкубування в термостаті.

Визначення уреазі (проба Заксе). Дифтерійні бактерії цього ферменту не утворюють. Позитивну пробу на уреазу дають лише деякі інші види коринебактерій. Для постановки проби виділену культуру сіють на бульйон із сечовиною. Уреаза розкладає сечовину, змінює рН середовища, що супроводжується його почервонінням. Якщо фермент не виділяється, зміна забарвлення бульйону не відбувається.

Визначення піразинамідази проводять шляхом гідролізу піразинаміду до піразиної кислоти та амонію. Для цього в стерильну пробірку вливають 0,25 мл стерильної дистильованої води, в якій готують густу завись виділеної культури, потім вносять одну діагностичну таблетку Rosko 598-21. Інкують протягом 4-х год при 37 °С, після чого додають одну краплю щойно приготовленого 5 % водного розчину сульфату амонійного заліза. При наявності ферменту суспензія набуває червоного або оранжевого кольору.

Патогенні коринебактерії не виділяють піразинамідазу, а отже й не змінюють кольору суспензії. Цукролітичні ферменти визначають шляхом посіву повної петлі виділеної культури в кожен пробірку вкороченого строкатого ряду Гіса (глюкоза, сахароза, розчинний крохмаль). Результати враховують через 24 год інкубування в термостаті. Розщеплення крохмалю може затримуватись до 48 год.

Визначення нітратредуктази є додатковим тестом для ідентифікації *S. belfanti* і *S. ulcerans*, які не утворюють цього ферменту. У пробірку з бульйоном, до якого додають 0,1 %  $KNO_3$ , засівають досліджувану культуру, інкують в термостаті протягом доби. Обов'язково ставлять контроль з незасіяним середовищем. На випадок наявності нітратредуктази при додаванні до засіяного бульйону 3-х крапель реактиву Касаткіна виникає червоне забарвлення. Середовище в контрольній пробірці кольору не змінює.

Для ідентифікації коринебактерій останнім часом використовують паперові індикаторні диски з глюкозою, сахарозою, сечовиною та крохмалем із набору "Б" для ідентифікації ентеробактерій (фірма "ІмБіо", м. Нижній Новгород). У 4-х пробірках готують густу завись досліджуваної культури і в кожен з них занурюють диск із відповідним вуглеводом чи іншим реактивом. Після інкубування в термостаті облік виділення уреазі проводять через 40-120 хв, а визначення цукролітичної активності – через 5-24 год. При наявності уреазі білий диск із сечовиною стає рожево-малиновим, при відсутності – залишається білим. Диски з глюкозою та сахарозою при наявності відповідних ферментів вже через 5-6 год змінюють колір з червоного на жовтий. При визначенні амілази в пробірку з відповідним субстратом додають індикаторний диск з йодом. Якщо ферменту немає – з'являється темно-синє забарвлення, якщо є – колір розчина залишається без змін.

### **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 коринебактерій. 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. Мікобактерії.

**Мета:** Ознайомити студентів з основними властивостями *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*. Ознайомити студентів з основними представниками роду *Mycobacterium*, туберкульозом и лепрою різних локалізацій, вивчити основні методи мікробіологічної діагностики туберкульозу та лепри.

**Основні поняття:** *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, туберкульоз, лепра, специфічна профілактика туберкульозу, БЦЖ.

**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).

Проблема туберкульозу та лепри, не дивлячись на значні успіхи у боротьбі із цим захворюванням в нашій країні та інших країнах світу, залишається дуже актуальною в інфекційній патології як дітей, так і дорослих.

Основне значення в справі зниження захворюваності туберкульозом має своєчасна диспансеризація населення, що залежить від раннього виявлення інфікованих туберкульозом осіб. Немаловажне значення має і захворюваність на лепру.

Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань по етіології, патогенезу, принципам специфічної профілактики, терапії цих інфекцій, особливо по мікробіологічній діагностиці, оскільки вона являється загальним і обов'язковим методом постановки діагнозу цих інфекцій і служить для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

##### **Вимоги до знань:**

- знати властивості мікобактерій туберкульозу та лепри;
- знати загальну схему лабораторної діагностики туберкульозу;
- знати патогенез туберкульозу та принципи терапії;
- знати специфічну та неспецифічну профілактику туберкульозу;
- знати загальну схему лабораторної діагностики лепри;
- знати патогенез лепри та принципи її терапії.
- знати профілактику лепри.

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

1. Таксономія мікобактерій.
2. Морфологія *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*.
3. Епідеміологія *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*.
4. Патогенез та клінічні прояви туберкульозу та лепри.
5. Імунітет. Імунна відповідь.
6. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
7. Лікування.
8. Специфічна профілактика.

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

##### **Питання:**

1. Морфологія мікобактерій туберкульозу, методи забарвлення. Відношення до забарвлення за Грамом.

2. Резистентність мікобактерій туберкульозу до чинників навколишнього середовища і дезінфектантів.
3. Патогенез туберкульозу у людини (вхідні ворота, інкубаційний період, шляхи розповсюдження в організмі, поняття про первинний туберкульозний комплекс і вогнище Гону).
4. Імунітет і гіперчутливість при туберкульозі. Основні механізми, задіяні в імунітеті. Значення клітинного і гуморального імунітету при туберкульозі.
5. Лабораторна діагностика туберкульозу – характеристика діагностичних методів. Матеріал для дослідження на туберкульоз – види, правила збору.
6. Лікування туберкульозу. Етіотропна терапія. Протитуберкульозні препарати 1 та 2 ряду. Похідні ГІНК и ПАСК в терапії туберкульозу.
7. Антибіотики, які використовують в лікуванні туберкульозу. Механізм їх дії та побічні ефекти.
8. Патогенетична терапія туберкульозу.
9. Специфічна профілактика туберкульозу. Вакцина, строки вакцинації, протипоказання до вакцинації, згідно з наказом МОЗ України.
10. Неспецифічна профілактика туберкульозу.
11. Морфологія збудника лепри. Методи забарвлення збудника.
12. Стійкість *M. leprae* до факторів навколишнього середовища.
13. Епідеміологія лепри (джерела інфекції, механізми та шляхи передачі, чутливі організми, значення первинного інфікування і реінфекції).
14. Патогенез та клінічні прояви лепри у людини.

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

В баклабораторії при мікроскопії мазків з мокротиння хворого з хронічним легенеvim захворюванням, забарвлених по Цилю-Нільсену, виявлені червоні палички. Яку властивість виявлено при цьому?

- A. Кислотостійкість
- B. Спороутворення
- C. Лугостійкість
- D. Спиртостійкість
- E. Капсулоутворення

У мазку приготованому з мокротиння хворого на туберкульоз мікобактерії (БК) не виявлені. Можна підвищити ймовірність бактеріоскопічного виявлення збудника в мокроті? Якщо так, то якими методами.

- A. Методами збагачення досліджуємого матеріалу (центрифугація, флотація)
- B. Серологічними методами
- C. Посівом матеріалу на середовища збагачення
- D. Біологічним методом
- E. Методом імуноферментного аналізу

В лабораторію надійшло мокротиння хворого на туберкульоз. Який метод фарбування слід використовувати для виявлення збудників туберкульозу?

- A. Циля-Нільсена
- B. Буррі-Гінса
- C. Грама-Синьова
- D. Нейсера
- E. Гимзе-Романовського

У першому класі було проведене медичне обстеження учнів з метою відбору дітей для ревакцинації проти туберкульозу. Яку з наведених нижче проб при цьому використовували?

- A. Проба Манту
- B. Проба з антраксином
- C. Проба Шика
- D. Проба Бюрне
- E. Шкірна проба с тулярином

У дитини 10 років поставлено пробу Манту (з туберкуліном). Через 48 годин на місці введення туберкуліну з'явилася папула розміром до 8 мм в діаметрі. Який тип реакції гіперчутливості розвинувся після введення туберкуліну?

- A. Реакція гіперчутливості IV типу
- B. Атопічна реакція
- C. Реакція гіперчутливості II типу
- D. Реакція типу сивороточної хвороби
- E. Реакція типу феномен Артюса

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

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

1. Вивчити схему мікробіологічної діагностики туберкульозу.
2. Провести мікроскопічне дослідження мокротиння (приготувати препарат з досліджуваного матеріалу, забарвити за методом Ціля-Нільсена, мікроскопія, замальовка).
3. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат мікрокультури *Mycobacterium tuberculosis*.
4. Розглянути і замалювати демонстраційний препарат *M. leprae*.
5. Ознайомитися з препаратами туберкуліну та вакцини БЦЖ.

#### **Задача.**

Хворий 23 років, працівник забійного цеху м'ясокомбінату, поступив на 6 день хвороби зі скаргами на виражений головний біль, біль у м'язах, особливо ніг, блювоту. Захворювання почалося гостро: температура тіла підвищилася до 40,0°C і утримувалася на цьому рівні всі дні, турбував біль у м'язах, головний біль, який поступово посилювався. З 3 дня хвороби - щодня носові кровотечі. Через м'язовий біль не зміг ходити.

*Об'єктивно:* лежить нерухомо, стогне. Незначна жовтяниця, висип відсутній. На склерах - зливні геморагії, у ротоглотці - без змін. Помірна ригідність потиличних м'язів потилиці, позитивний симптом Керніга. Гепатолієнальний синдром. Т тіла 39,6°C, пульс 39,6°C, пульс

104 уд/хв, поодинокі екстрасистоли. Тони серця приглушені. АТ - 130/80 мм рт.ст. За добу у відділенні хворий виділив 300 мл сечі, яка мала вигляд "м'ясних помий".

*Діагноз:* Лептоспіроз, жовтянична форма, тяжкий перебіг. ГНН II (олігоурична стадія). Лептоспірозний менінгіт (?) Геморагічний синдром.

*Діагностика:* додати люмбальну пункцію з дослідженням ліквору в темному полі, загальним і біохімічним дослідженням

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

##### **Культивування мікобактерій туберкульозу**

Мікобактерії туберкульозу - аероби, оптимум росту 37°C, крайні температурні межі 24 - 42°C, реакція середовища майже нейтральна (рН 6,4 - 7,0), але зростання може спостерігатися і в межах рН 6,0 - 8,0.

Туберкульозні мікобактерії ростуть на елективних середовищах: згорнутій сироватці, глицериновому агарі, глицериновій картоплі, глицериновому бульйоні і яєчних середовищах (Петрова, Петраньяни, Дорсе, Левенштейна - Йенсена та ін). Їх можна культивувати в синтетичному середовищі Сотона, що містить аспарагін, гліцерин, цитрат заліза, фосфат калію та інші речовини.

Туберкульозні мікобактерії потребують певних концентрацій вітамінів (біотин, нікотинова кислота, рибофлавін та ін). На глицериновому (2 - 3%) агарі ледь помітне зростання їх з'являється через 8 - 10 днів після посіву, а через 2 - 3 тижні утворюється сухий наліт слабо-жовтого кольору. Краще і швидше (на 6 - 8-й день) розвиваються туберкульозні мікобактерії на яєчному середовищі Петрова, що складається з яєчного жовтка, м'ясного екстракту, агару, гліцерину і генцианового фіолетового. Синтетичні і напівсинтетичні лабораторіях.

На щільних поживних середовищах утворюються шорсткі колонії з потовщеною або зморшкуватою поверхнею і з тонкими нерівними краями. У глицериновому (4 - 5%) м'ясо-пептонном бульйоні туберкульозні мікобактерії через 10 - 15 днів утворюють тонку ніжну плівку, яка поступово товстішає, стає крихкою, набуває бугристо-зморшкуватий вигляд і жовтуватий колір; бульйон залишається прозорим. Колонії туберкульозних мікобактерій дисоціюють з типових R-форм в атипові S-форми. Окремі штами у старих культурах виробляють жовтий пігмент.

*M. tuberculosis* може з успіхом вирощуватися у вигляді мікрокультур по Прайсу або глибинних культур за Школьниковою в цитратній крові кролика або барана. Зростання стає видимим через 3-6 днів.

#### **Лабораторна діагностика туберкульозу**

**1. Мікроскопія мазків**, виготовлених з мокротиння або гною, спинномозкової або плевральної рідини, сечі, випорожнень, лімфатичних вузлів та ін., пофарбованих за методом Циля - Нільсена. Для накопичення мікобактерій обробку мокротиння проводять методами збагачення (гомогенізації та флотації). Хороший результат дають методи люмінесцентної мікроскопії з аураміном.

**2. Виділення чистої культури.** Оброблене мокротиння, гній, залишки паренхіматозних органів від трупів та інші матеріали засівають на одну з вищевказаних поживних середовищ. Інструкцією ВООЗ в якості стандартного середовища для первинного вирощування мікобактерій рекомендоване яєчне середовище Левенштейна - Йенсена.

Дуже ефективний метод мікрокультур Прайса, який дозволяє виростити мікобактерій в більш короткі терміни. Вірулентних мікобактерій через 2 - 3, максимум через 7 - 10 діб, в мікрокультурах утворюють покручені тяжі, в той час як невирулентні штами утворюють аморфні скупчення.

**3. Біологічний метод.** При зараженні морських свинок на місці введення матеріалу утворюється інфільтрат, збільшуються лімфатичні вузли, розвивається генералізований туберкульоз; смерть тварин настає через 1 - 1/2 міс. На розтині у внутрішніх органах виявляють численні туберкульозні горбки. З 5 - 10-го дня після зараження досліджують пунктат з лімфатичних вузлів на наявність туберкульозних мікобактерій, з 3 - 4-го тижня у заражених тварин ставлять туберкулінову пробу. Атипові штами і L-форми непатогенні для морських свинок.

#### **4. Серологічний метод.**

**Реакція зв'язування комплекменту.** При хронічних легеневих формах буває позитивною в 80%, при туберкульозі шкіри - у 20 - 25% і у здорових людей - у 5 - 10% випадків.

**Реакція непрямой гемаглютинації (реакція Мидлбрука-Дюбо)** з еритроцитами барана, навантаженими полісахаридом з туберкульозних мікобактерій або туберкуліном. Дозволяє виявити специфічні антитіла в сироватці хворих на туберкульоз.

В даний час можна рекомендувати імуноферментний аналіз з використанням відповідних тест-систем.

**Туберкулінова (алергічна) проба Манту.** Застосовується для визначення інфікованості населення мікобактеріями туберкульозу та діагностики туберкульозу, виявлення віражу туберкулінових проб, відбору осіб, що підлягають щепленням, визначення ефективності вакцинації БЦЖ, оцінки перебігу туберкульозного процесу.

#### **Культивування та лабораторна діагностика лепри**

**Культивування** Збудник лепри на поживних середовищах, що застосовуються для вирощування мікобактерій туберкульозу, не зростає. Деякі успіхи в культивуванні мікобактерій лепри отримані в результаті введення заразного матеріалу в лапку мишей, де вони розмножуються протягом 230 – 30 днів.

#### **Лабораторна діагностика**

Для дослідження беруть зіскрібок зі слизової оболонки носа (з обох сторін перегородки), вміст лепрозних вузлів шкіри, мокротиння, виділення виразок, в період лихоманки досліджують кров. Основним методом діагностики лепри є мікроскопічне дослідження забарвлення мазків проводиться по Цилю – Нільсену.

**Алергічна проба Митсуда** вважається позитивною, якщо через 48 - 72 год на місці введення 0,1 мл лепромина (суспензія лепрозного вузла, розтертого в ступці і тривало кип'яченого) з'являються еритема та невелика папула (рання реакція). Для діагностики лепри використовують реакцію зв'язування комплементу та непрямую реакцію гемаглютинації.

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

1. Знати схеми лабораторної діагностики мікобактерій.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні препарати. Знати алгоритм виготовлення мазка з харкотиння хворого.
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**

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 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 . Рикетсії

**Мета.** Ознайомити студентів з основними представниками роду *Rickettsia* – збудниками рикетсіозів, різних локалізацій. Вивчити основні методи мікробіологічної діагностики цих захворювань.

**Основні поняття:** *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi*, епідемічний та ендемічний висипний тиф, Ку- лихоманка,.

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

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

Рикетсіози – широко поширені захворювання і являють собою типові трансмісивні, переважно природно-осередкові інфекційні захворювання у тварин, птахів, з ймовірною наступною передачею людині через комах-переносників, уражаючи органи дахіння, серцево-судинну систему, сечо-статеву та центральну нервову системи.

Зоонозні та антропонозні рикетсіози є серйозною проблемою національних служб охорони здоров'я внаслідок їх глобального розповсюдження, негативного впливу на здоров'я населення та економіку народного господарства. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань по етіології, патогенезу, принципам специфічної профілактики, терапії цих інфекцій, особливо по мікробіологічній діагностиці, оскільки вона являється загальним і обов'язковим методом постановки діагнозу цих інфекцій і служить для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### **2. Контроль опорних знань:**

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

###### ***Вимоги до знань:***

- знати сучасну таксономічну класифікацію рикетсій;
- знати загальну схему лабораторної діагностики рикетсіозів;
- знати морфологічні ознаки рикетсій;
- знати правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
- знати режим роботи в бактеріологічній лабораторії;
- знати цикл розвитку рикетсій;
- знати патогенез та клінічні прояви;
- знати принципи лікування та профілактики рикетсіозів

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

1. Таксономія рикетсій.
2. Морфологія рикетсій.
3. Епідеміологія рикетсіозів.
4. Цикли розвитку рикетсій.
5. Патогенез та клінічні прояви.
6. Імунітет. Імунна відповідь.
7. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
8. Лікування.
9. Специфічна профілактика.

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

**Питання:**

1. Загальна характеристика рикетсій. Класифікація. Види збудників деяких рикетсіозів (епідемічного та ендемічного висипного тифу, Ку-гарячки тощо).
2. Морфо-біологічні властивості рикетсій, методи забарвлення та мікроскопії.
3. Поняття про внутрішньо-клітинний паразитизм.
4. Особливості культивування рикетсій як внутрішньоклітинних паразитів (жовточний мішок курячого ембріону, лабораторні тварини та культури клітин).
5. Токсинутворення рикетсій та чинники патогенності.
6. Антигенна структура рикетсій. Види антигенів.
7. Резистентність рикетсій до чинників навколишнього середовища і дезінфектантів.
8. Патогенність рикетсій для диких та лабораторних тварин.
9. Епідеміологія рикетсіозів, висипного тифу (джерело інфекції, механізм, шляхи передачі, чутливі організми). Заразність хворих в різні періоди захворювання.
10. Патогенез висипного тифу, відмінності епідеміології епідемічного та ендемічного висипних тифів.
11. Основні органи-мішені та танатогенез при висипному тифі.
12. Імунітет при рикетсіозах, висипному тифі, його напруженість, спрямованість і тривалість. Хвороба Брилла-Цінссера.
13. Профілактика та лікування рикетсіозів.
14. Морфо-біологічні властивості збудника Ку-гарячки, назва збудника латиною.
15. Особливості епідеміології та патогенезу Ку-гарячки (пневмотропний) рикетсіоз.

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

Висипний тиф із групи рикетсіозів – основним шляхом передачі збудника є

- A. Трансмисивний
- B. Повітряно-краплиний
- C. Фекально-оральний
- D. Побутовий
- E. Статевий

У дитини 5 років виявлені інтоксикація, петехіальні висипання на шкірі, слизових оболонках ротової порожнини, кон'юнктивах, запаморочення, девіація язика. Стан хворого поліпшився після призначення тетрацикліну. Визначте найбільш вірогідного збудника

- A. Рикетсія Провачека
- B. Кандида
- C. Клострідія токсигенна
- D. Аденовірус

У людини, яка раніше перехворіла на висипковий тиф, на тлі повного епідеміологічного благополуччя, з'явилися симптоми захворювання на висипко вий тиф. Діагностована рецидивна форма висипкового тифу – хвороба Бриля. Переносником захворювання є:

- A. немає переносника
- B. мухи
- C. воші
- D. кліщі
- E. комари

Серед перерахованих інфекцій виберіть антропоноз-

- A. епідемічний висипковий тиф
- B. чума
- C. сибірка
- D. токсоплазмоз

Е. Ку-лихоманка

У хворого Б. в анамнезі епідемічний висипний тиф (хворів 5 років тому). Після перенесеного ГРВІ на тлі зниження імунітету з'явилися ознаки тифу. Загострення сталося за рахунок бактерій, які залишилися в організмі хворого. Як називається ця форма інфекції?

- А. Рецидив.
- В. Суперінфекція.
- С. Реінфекція.
- Д. Вторинна інфекція.
- Е. Коінфекція.

Здатні до позаклітинного розмноження в організмі та на поживних середовищах

- А. Рикетсії волинської, або п'ятиденної лихоманки
- В. Хламідії
- С. Рикетсії шурячого висипного тифу
- Д. Рикетсії Ку-лихоманки
- Е. Рикетсії висипного тифу

На лікуванні в інфекційній лікарні перебуває пацієнт, якому виставлено клінічний діагноз: хвороба Брілля (Цинссера). Що послужило безпосередньою причиною захворювання?

- А. Рикетсії, які перебували в латентному стані в організмі.
- В. Заражена рикетсіями платтяна воша.
- С. Контакт з іншим хворим.
- Д. Контакт із реконвалесцентом.
- Е. Контакт зі здоровим носієм.

Який із мікроорганізмів переважно вражає клітини ендотелію судин?

- А. *Rickettsia prowazekii*
- В. *Shigella dysenteriae*
- С. *Escherichia coli*
- Д. *Bordetella pertussis*
- Е. *Salmonella typhi*

В інфекційну лікарню доставили літнього чоловіка, бездомного. Скарги на високу температуру, запаморочення, висип на шкірі. З огляду на те, що хворий страждає також на педикульоз, лікар запідозрив висипний тиф. Який метод діагностики найдоцільніше використовувати для підтвердження діагнозу?

- А. Серологічний
- В. Алергологічний
- С. Бактеріологічний
- Д. Мікроскопічний
- Е. Вірусологічний

Серед перелічених захворювань виберіть антропоноз :

- А. Чума
- В. Епідемічний висипний тиф
- С. Сибірська виразка
- Д. Токсоплазмоз
- Е. Ку-лихоманка

### 3. Формування професійних вмінь, навичок:

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

**Задача 1.** У лікарню госпіталізовано пацієнта – безхатка 32 років, якій хворіє 5 днів. Під час огляду – температура 39С, пригнічений, дезорієнтований. Шкіра бліда з рясними елементами петехіального висипу. Має педікульоз.

1. Який клінічний діагноз можна встановити?

- Епідемічний висипний тиф.

2. Який план лабораторного підтвердження?

- Серологічне дослідження (РА, РНГА, РЗК з рикетсіозним діагностикомом), ІФА.

3 Хто є збудником та переносником цього захворювання?

- Збудник — *Rickettsia prowazekii*, переносники — воші.

#### **Задача 2.**

Чоловікові 27 років, геолог, протягом місяця жив у бараку, контактував із зараженими колегами. Госпіталізований на 6 день хвороби зі скаргами на нестерпний головний біль, страхітливий сновидіння, відсутність апетиту, Т до 40С. Захворів гостро, з'явився головний біль, мерзлякуватість, ломота в тілі, Т підвищилася до 39 С. Ночами марив, були зорові галюцинації, безсоння. На 5 день хвороби спостерігалось короткочасне зниження Т тіла до 37,5 С, після чого на тілі з'явився рясний розеолезно-петехіальний висип. Об'єктивно: Т тіла 39,5С, збуджений, балакучий, ейфоричний. Свідомість збережена, гіперемія обличчя і кон'юнктив, плямиста енантема на слизовій ротоглотки, поодинокі петехії біля uvulae. Язик сухий, вкритий сіруватим нашаруванням, тремтить при висовуванні. На шкірі тулуба і кінцівок розеоли і місцями первинні петехії. Тони серця глухі, АТ 90/55 мм рт. с., ЧСС 120 уд. хв. Живіт м'який, печінка і селезінка помірно збільшені.

*Попередній діагноз.* Висипний тиф, період розпаду

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

Морфологічно рикетсії подібні з бактеріями — мають оболонки, цитоплазму, ядерну субстанцію та інші органели, властиві бактеріям, розмножуються розподілом. Спор та капсул не утворюють. Гр-, за Здродовським фарбуються в червоний колір. З вірусами їх зближає внутрішньоклітинний паразитизм та нездатність культивуватися на поживних середовищах. Культивування рикетсій наближається до методів культивування вірусів: а) в організмі лабораторних тварин, іноді переносників; б) у жовточному мішку курячого ембріону та в) на культурах клітин. Рикетсія це облигатний внутрішньоклітинний паразит, в уражених клітинах локалізується в цитоплазмі або ядрі (внутрішньовидова ознака). У людини рикетсіози супроводжуються лихоманкою, інтоксикацією, висипкою (петехіальна, макульозна, папуло-макульозна).

#### **Існують 2 класифікації:**

а) Епідеміологічна — за переносниками (вошиві, блошині, кліщові). Зручна, для планування профілактичних і протиепідемічних заходів.

б) Серологічна, запропонована Й.Ф. Здродовським, заснована на реакції аглютинації сироватки крові хворих з рикетсіозними діагностикумами.

Епідемічний сипний тиф –джерелом інфекції є людина (антропонозне захворювання), переносник – головна або платяна воша Воша уражується, харчуючись кров'ю хворого, загальна заразливість хворого 20 днів (освітити досвід одеситів Монутковського і Мінха). У кишечнику вошей рикетсії розмножуються з загибеллю епітелію, десквамацією і подальшим перетравлюванням епітелію і нагромадженням рикетсій у виділеннях вошей. Вважають, що з 4-го дня після харчування на хворому воші стають заразними. Людина заражається шляхом втирання випорожнень заразних вошей у ранку від укусу в зв'язку з виникаючим свербінням. Після інкубаційного періоду - 2 тижні, до 25 днів, захворювання характеризується високою температурою, інтоксикацією, поразкою нервової і серцево-судинної систем, інших органів, з легальністю, що досягала 10-20%. У патогенезі

захворювання характерна поразка ендотелія судин з явищами васкулітів, тромбоваскулітів, крапковими крововиливами, що обумовлюють поява рясної розеолезно-петехіальної висипки на шкірі. Імунітет після перенесеного захворювання стійкий, до 25 років. Можливі повторні захворювання - хвороба Брилля, з більш легким плином. Для лікування застосовуються антибіотики тетрациклінового ряду, левоміцетин, еритроміцин, з малим терапевтичним ефектом через внутрішньоклітинний паразитизм. Для лабораторної діагностики використовують серологічний метод з дослідженням наявності антитіл до рикетсій шляхом постановки РА, РНГА, РСК та як більш сучасний – ІФА. Також використовують ПЛР, імуофлюоресценцію. Біопроба на морських свинках допомагає в диференціюванні епідемічного та ендемічного висипного тифу.

Ку-лихоманка. Збудник *Coxiella burnetii*. Захворювання реєструється майже повсюди, зооозно-антропонозне захворювання. У природних вогнищах хворіють гризуни, тварини, птахи. Переносником є іксодові, можливо інші види кліщів. У кліщів відзначена трансваріальна передача рикетсій нащадкам. Хворі тварини виділяють рикетсії з випорожненнями, сечею, з молоком, плацентарними водами. Для людини основний шлях зараження - вживання молока хворих тварин, молочних продуктів, догляд за хворими тваринами. Рикетсії проникають через подряпини та тріщини шкіри, неушкоджені слизові оболонки, повітряно-краплиним шляхом. Інкубаційний період 7-30 днів. Рикетсії в макрофагах розмножуються, після їхньої загибелі виникає рикетсіємія і генералізація інфекційного процесу з переважною поразкою легень - дрібні інтерстиціальні вогнища, що виявляються тільки рентгенографією. Для клінічної картини характерні лихоманка, слабкість, симптоми ураження легень (пневмотропний рикетсіоз). Для лабораторної діагностики використовують серологічний метод (РСК, РНГА, ІФА). Як ретроспективний метод можлива постановка кожно-алергічної проби.

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

1. Описати морфолого-біологічні властивості рикетсій, хламідій та мікоплазм.
2. Описати загальну схему лабораторної діагностики висипного тифу.
3. Описати патогенез висипного тифу.
4. Описати особливості епідеміології та патогенезу Ку-лихоманки.
5. Описати загальну схему лабораторної діагностики Ку-лихоманки.

### **3.4. матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо**

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження?
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. 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 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. Хламідії. Мікоплазми

**Мета:** Ознайомити студентів з основними представниками родів *Chlamidia*, *Mycoplasma* – збудниками хламідіозів різних локалізацій, та мікоплазменних інфекцій. Вивчити основні методи мікробіологічної діагностики цих захворювань.

**Основні поняття:** *Chlamidia trachomatis* та її серовари, *Chlamidia psittaci*, *Chlamidia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum* трахома, орнітоз, негонококові уретрити, атипова пневмонія.

**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).

Широкий спектр клініко-епідеміологічних проявів хламідіозів та мікоплазмозів визначається екологічними особливостями збудників захворювань – хламідій та мікоплазм різних видів, своєрідністю їхньої взаємодії з клітиною хазяїна, реакцією макроорганізму, а також різними шляхами.

Хламідіози та мікоплазмози є серйозною проблемою національних служб охорони здоров'я внаслідок їх глобального розповсюдження, негативного впливу на здоров'я населення та економіку народного господарства. Тому вивчення даної теми необхідно для отримання знань по етіології, патогенезу, принципам специфічної профілактики, терапії цих інфекцій, особливо по мікробіологічній діагностиці, оскільки вона являється загальним і обов'язковим методом постановки діагнозу цих інфекцій і служить для вирішення питань вибору методів лікування й проведення протиепідемічних заходів.

#### 2. Контроль опорних знань:

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

###### *Вимоги до знань:*

1. Надати загальну характеристику родини Chlamydiaceae, назвати основні серовари.
2. Описати особливості епідеміології та патогенезу основних хламідійних інфекцій – трахоми, орнітозу, ураження сечо-статевого тракту, легенів, очей.
3. Описати схему загальної діагностики хламідіозів.
4. Надати характеристику морфо-біологічних особливостей роду *Mycoplasma*.
5. Описати епідеміологію та патогенез основних захворювань, викликаних мікоплазмами та сучасні методи лабораторної діагностики.

###### *Перелік дидактичних одиниць:*

9. Таксономія хламідій та мікоплазм.
10. Морфологія хламідіози та мікоплазмози.
11. Епідеміологія.
12. Цикл розвитку хламідій та мікоплазм.
13. Патогенез та клінічні прояви захворювань, які викликають хламідії та мікоплазми.
14. Імунітет. Імунна відповідь при SARS-CoV-2.
15. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
16. Лікування. Специфічна профілактика.

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

###### *Питання:*

1. Морфо-біологічна характеристика хламідій як облігатних внутрішньоклітинних паразитів. Види та серовари збудника.

2. Особливості культивування та життєвого циклу хламідій.
3. Епідеміологія хламідійних інфекцій (джерела інфекції, механізми та шляхи передачі, чутливі організми, повсюдні та ендемічні хламідіози).
4. Патогенез хламідійних інфекцій у людини (вхідні ворота, інкубаційний період, шляхи розповсюдження в організмі, патологічні зміни в уражених органах та тканинах).
5. Особливості імунітету при хламідіозах.
6. Лабораторна діагностика хламідійних інфекцій (орнітозу, трахоми, уrogenітального хламідіозу) – характеристика діагностичних методів. Матеріал для дослідження – види, правила збору.
7. ПЛР та ІФА як сучасні методи діагностики хламідійних інфекцій.
8. Лікування та профілактика хламідійних захворювань.
9. Морфо-біологічні особливості мікоплазм. Патогенні види для людини.
10. Культивування мікоплазм, характеристика середовищ та особливості росту.
11. Токсинутворення та інші чинники патогенності мікоплазм.
12. Епідеміологія та патогенез мікоплазменних інфекцій (джерело інфекції, механізм та шляхи передачі, розповсюдження в організмі людини).
13. Методи лабораторної діагностики мікоплазмозів.

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

30 річний чоловік хворів на уретрит з подальшим розповсюдженням інфекції на простату. Для мікробіологічної діагностики було проведено культуральне дослідження Ріст збудника був отриманий тільки на середовищі із додаванням 10% сечі. До якої групи мікроорганізмів найбільш вірогідно належить збудник цього захворювання

- A. Мікоплазми
- B. Нейсерії
- C. Стафілококи
- D. Хламідії
- E. Сальмонели

У хворого діагностовано пневмонію мікоплазменної етіології. Які антибіотики за механізмом їхньої дії не слід використовувати для лікування

- A. Антибіотики, які пригнічують синтез клітинної стінки
- B. Антибіотики, які порушують синтез нуклеїнових кислот
- C. Антибіотики, які порушують синтез білку
- D. Антибіотики, які впливають на цитоплазматичні мембрани
- E. Антибіотики. Які порушують процеси окислювального фосфориліровання

Із статевих шляхів хворого на уретрит була виділена *Chlamydia trachomatis*. Які органи ще може вражати цей збудник,

- A. Очі
- B. ЦНС
- C. Нирки
- D. Суглави
- E. Шлунково-кишковий тракт

У 3-річної дитини діагностовано інтерстиціальну пневмонію, яка не піддавалася лікуванню антибіотиками, що діють на синтез клітинної стінки бактерій. На спеціальному середовищі виділений агент утворює мікроскопічні колонії зі щільним центром. Який діагноз можна поставити на основі клініко-лабораторних даних?

- A. Мікоплазмова пневмонія
- B. Актиномікоз
- C. Мікобактеріоз

- D. Системний мікоз
- E. Мікотоксикоз

Мікоплазми більш чутливі, ніж інші бактерії, до впливу механічних, фізичних і хімічних чинників (УФ-опромінення, дії прямих сонячних променів, рентгенівського опромінення, зміни рН середовища, дії високої температури, висушування) через:

- A. відсутність ригідної клітинної стінки та її попередників
- B. особливостей будови клітинної стінки
- C. наявності особливих ферментів у мембрані клітин
- D. наявності підвищеного вмісту холестерину
- E. підвищеного вмісту ліпідів і восків у складі клітинної стінки

### 3. Формування професійних вмінь, навичок:

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

До роду *Chlamydia* належать збудники трахоми, кон'юнктивіту, пахвинного лімфогранулематозу, орнітозу та запальні процеси сечо-статевого тракту (негонококові уретрити). У циклі розвитку хламідій є 3 стадії. На першій стадії це дрібні елементарні тіла, оточені тришаровою оболонкою і містять генетичний матеріал в компактному стані. Вони є інфекційними але метаболічно не активні. Дуже резистентні до факторів зовнішнього середовища та антимікробних препаратів. Ретикулярні тільця (РТ) (діаметром до 1 мкм) – внутрішньоклітинні форми, з вираженою метаболічною активністю і здатністю до поділу та розмноження. Та перехідні форми між елементарними та ретикулярними тілами.

*Культивування.* Облігатний внутрішньоклітинний паразитизм хламідій обумовлений нездатністю самостійно синтезувати високоенергетичні сполуки, і пов'язаний з потребою в молекулах АТФ клітини-господаря. Як внутрішньоклітинні паразити хламідії розмножуються в жовточному міхурі курячого ембріону. В основі патогенезу лежить епітеліотропність збудника, який може уражати епітелій різних органів (очей, легенів, статеву систему). Розмноженні збудника в епітелії призводить до утворення виразок, які загоюються з формуванням рубців та спайок. Рубцеві зміни рогівки призводять до сліпоты, хламідійне запалення органів малого тазу призводить до безпліддя.

*В основі лабораторної діагностики* – серологічний метод з визначенням титру антитіл шляхом ІФА. А також ПЛР діагностика.

Мікоплазми складають особливий клас мікроорганізмів з характерними ознаками:

- малі розміри життєздатних частинок, близьких до розмірів вірусів;
- відсутність ригідної клітинної стінки;
- вміст у клітинах ДНК та РНК на відміну від вірусів, що мають одну з кислот;
- здатність рости на вільних від клітин поживних середовищах;
- на щільних середовищах центр колоній мікоплазми востає у середовище, а периферія ажурна;
- в організмі прикріплюються до мембрани клітин (мембранні паразити);
- розмноження шляхом бінарного ділення, як і у бактерій;
- ріст мікоплазм пригнічують тетрацикліни, макроліди.

Антибіотики, що впливають на синтез клітинної стінки (пеніциліни) не ефективні.

З організму людини найчастіше виділяють мікоплазми, що входять до складу двох родів: *Mycoplasma* і *Ureaplasma*, серед яких є патогенні й сапрофітні види. Найбільш поширеним захворюванням є мікоплазмова пневмонія або респіраторний мікоплазмоз. Розповсюдження геніальних мікоплазм відбувається при статевому контакті. *M. hominis* паразитує на слизових оболонках нижніх відділів сечостатевих органів (сечівник, піхва, шийка матки), рідко – на слизовій оболонці зівя і глотки. Основний шлях передачі – статевий. У різних країнах захворюваність варіює в межах 10–50 %. У чоловіків збудник переважно спричинює уретрити і простатити, у жінок – уретрити, цервіцити (від лат. *Cervix uteri* – шийка матки), запалення органів таза: сальпінгіт (від грец. *salpinx* – труба), оофорити

(від новолат. oophoron – яєчник), ендометрит (від грец. endon – внутрішній і metra – матка), аднексит (від лат. adnexa – придатки). Лабораторна діагностика проводиться за допомогою серологічного дослідження (ІФА) та ПЛР.

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

**Вивіти зміст таблиці**

#### Хламідійні інфекції людини

Ураження	Захворювання	Мікроорганізм (серовари)
<b>Очі</b>	Трахома Інклюзійний кон'юнктивіт Ophthalmia neonatorum (бленорея з	<i>C. trachomatis</i> (A, B, Ba, C) <i>C. trachomatis</i> (D-K) <i>C. trachomatis</i> (D-K)
<b>Статеві шляхи</b>		
чоловікові	Уретрит, епідидиміт, проктит	<i>C. trachomatis</i> (D-K)
жінки	Уретрит, цервіцит, проктит, сальпінгіт, перигепатит, періапендицит, безпліддя Аборт, мертвородження	<i>C. trachomatis</i> (D-K) <i>C. psittaci</i> (овечьи штамми)
чоловікові та жінки	Венерична лімфогранульома	<i>C. trachomatis</i> (L1-L3)
<b>Респіраторний тракт</b>	Пневмоніт у дітей Фарингіт, пневмонія Орнітоз (пситтакоз) Пневмонія	<i>C. trachomatis</i> (D-K) <i>C. pneumoniae</i> <i>C. psittaci</i> (птичьи штамми) <i>C. psittaci</i> (овечьи штамми)

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

1. Описати морфолого-біологічні властивості рикетсій, хламідій та мікоплазм.
2. Описати патогенез та принципи терапії хламідійних інфекцій.
3. Описати загальну схему лабораторної діагностики хламідіозів.
4. Описати епідеміологію та патогенез мікоплазмозів.
5. Описати загальну схему діагностики та лікування мікоплазмозів.

### 3.4. матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо

1. Пояснити методи мікробіологічної діагностики
2. Пояснити який матеріал беремо для дослідження
3. Пояснити, які середовища використовуємо для виділення чистої культури
4. 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 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 & Нелсон 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)