

**Навчально-науковий центр «Інститут біології»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка**

Сенчило Н. В.

**Методичні рекомендації до семінарських занять із спецкурсу
«Збудники інфекційних захворювань».**

Київ 2013

Рецензенти:

В. П. Поліщук, професор, завідувач кафедри вірусології, доктор біологічних наук.

Л. М. Лазаренко, старший науковий співробітник відділу Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, доктор біологічних наук.

Тема: Мікробіологічна діагностика бактеріальних захворювань з переважним ураженням шлунково-кишкового тракту.

Методичне обґрунтування теми

Студенти повинні мати уяву про:

- бактеріальні інфекції шлунково-кишкового тракту;
- особливості життєдіяльності та поширення збудників захворювань шлунково-кишкового тракту;
- фактор патогенності та антигенну структуру збудників;
- основні методи діагностики бактеріальних захворювань шлунково-кишкового тракту.

Студенти повинні знати:

- загальні характеристики збудників захворювань шлунково-кишкового тракту;
- наукові назви та класифікацію збудників захворювань
- джерела та шляхи поширення інфекційних захворювань;
- формування та види набутого імунітету.

Студенти повинні:

- володіти методами діагностики бактеріальних захворювань шлунково-кишкового тракту;
- визначати морфолого-культуральні, біохімічні та антигенні властивості збудників.

Мета семінарських занять на тему «Мікробіологічна діагностика бактеріальних інфекційних захворювань з переважним ураженням шлунково-кишкового тракту» - закріпити уявлення та знання, отримані під час лекцій про:

- різноманітність збудників бактеріальних захворювань шлунково-кишкового тракту;
- основні характеристики цих бактерій;

- діагностику, профілактику та лікування інфекційних захворювань шлунково-кишкового тракту бактеріальної етіології.

Бактеріальні кишкові інфекції становлять різноманітну за етіологією і патогенезом групу захворювань. Для них спільні фекально-оральний механізм передачі та гастроентероколіт. Останній обумовлений запаленням слизової оболонки та гіперсекрецією рідини в просвіт кишечника.

Етіологічними агентами бактеріальних кишкових інфекцій слугують види мікроорганізмів із родів *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Yersinia*.

Органотропність цих бактерій порівняно вузька. Так, збудник холери розмножується в просвіті тонкої кишки, черевного тифу – в лімфатичних вузлах, шигельозу – в товстому кишечнику. Виділення бактеріальних клітин із зараженого організму хазяїна відбувається під час дефекації. В зовнішньому середовищі збудник часто змінює фактори передачі, перш ніж потрапити в організм людини. Зазвичай виділяють три взаємозамінні шляхи передачі інфекції: харчовий, водний і контактно-побутовий (так звана «естафетна передача»).

Поширення цих інфекцій залежить від багатьох факторів: невиявлених джерел інфекції (бактеріоносії, хворі на легкі форми захворювання), різних шляхів передачі збудника, соціальні чинники тощо. Зокрема, до останніх належать низький загальний санітарний рівень, окремі порушення водопостачання і очистки населених пунктів, оскільки спалахам кишкових захворювань протидіють здійсненням певних санітарно-гігієнічних заходів.

У зв'язку з труднощами диференціювання збудників кишкових захворювань при одноманітних клінічних проявах, необхідне комплексне мікробіологічне дослідження, що включає одночасний пошук в досліджуваному матеріалі збудників ешеріхіозів, сальмонельозів, дизентерії, холери.

Схема лабораторної діагностики при колієнтеритах і ешеріхіозах

Матеріалом досліджень при кишкових колієнтеритах і ешерихіозах слугують випорожнення, а при парентеральних – проби із відповідного інфекційного вогнища (сеча, кров тощо).

На першому етапі роботи випорожнення хворого висівають на диференційно-діагностичне середовище Ендо. Висів проводять штрихом на поверхню щільного середовища з метою отримання ізольованих колоній. Висіви інкубують за температури $+37^{\circ}\text{C}$ впродовж 18-24 год.

Після першої доби культивування проводять макроскопічну характеристику колоній. Відмічають наявність малиново-червоних (ферменть лактозу в складі середовища) темно-синіх на середовищі Левіна та безбарвних (не ферментують лактозу) колоній. Після цього ідентифікують виділені культури за морфологічними властивостями, застосовуючи фарбування за Грамом (у полі зору з'являються дрібні Gr^- палички).

Далі проводять реакцію аглютинації (РА) на склі з окремих колоній з сумішшю ОВ сироваток. Аглютинабельні колонії пересівають на середовище Реселя (МПА, 1% лактози, 0,1% глюкози та індикатор Андреде) наступним чином: колонію обережно вносять в конденсаційну рідину, далі штрихом засівають на всю скошену поверхню середовища і роблять укол у стовпчик. Інкубують висіви впродовж доби при $+37^{\circ}\text{C}$.

На другому етапі роботи проводять ідентифікацію виділеної культури за:

- *морфологічними і культуральними властивостями*, використовуючи бактеріоскопічний метод, а саме відмічають дрібні Gr^- палички, перевіряють чистоту культури, фарбують за Грамом;
- *біохімічними властивостями*, висіваючи бактерії в «кольоровий ряд» та на МПБ; при цьому колір середовища з глюкозою і лактозою змінюється, виділяється індол.
- *антигенними властивостями*, тобто проводячи РА на склі з сумішшю ОВ-сироваток; РА з типоспецифічними сироватками; розгорнуту РА, тобто

матеріал прогривають 2 год при +100°C; внаслідок руйнуються Н-В-антигени, і лише О-антигени залишаються.

Схема лабораторної діагностики дизентерії

Перший етап лабораторного дослідження на наявність збудника дизентерії у випорожненнях проводять з використанням бактеріологічного дослідження.

На першу добу з метою виділення колоній *Shigella sonnei* проводять висів досліджуваного матеріалу на середовище Плоскіррова з наступною інкубацією впродовж 24 год. при +37°C.

На другу добу проводять аналіз дрібних безбарвних колоній та білих колоній *E. coli* з наступним пересівом безбарвних колоній на середовище Ресселя (напівскошена поверхня поживного агару з додаванням 1% лактози, 1 % глюкози та індикатора) для отримання чистої культури.

Через 24 год. стовпчик агару набуває синього кольору, водночас скошена поверхня середовища не змінює забарвлення.

Другий етап роботи полягає в проведенні ідентифікації чистої культури за:

- *морфологічними та культуральними властивостями*, тобто перевірка чистоти культури та фарбування за Грамом (дрібні Гр'палички; зрідка досліджують препарат «висяча крапля» – для визначення рухливості бактерій);

- *біохімічними властивостями*, тобто висів на середовище Гісса та МПБ; при цьому колір середовища з лактозою не змінюється;

- *антигенною структурою*, тобто РА з полівалентною О-сироваткою, яка повинна містити 27 варіантів за досліджуваними Аг для визначення родової приналежності, та РА з моновалентними О-сироватками для встановлення серологічного типу;

- *коліциногенотипуванням* з епідеміологічною метою, оскільки клітини *Shigella sonne* містять різні типи коліциногенів, які розрізняють за допомогою індикаторних штамів.

Лабораторне дослідження при сальмонельозних, тифозних та паратифозних захворюваннях

Матеріалом досліджень слугують випорожнення, блювотні маси, промивні води, кров та сеча. При черевному тифі проводять забір проб із висипів на шкірі, жовчі, вмісту дванадцятипалої кишки та СМР. Матеріали і методи дослідження визначають згідно стадії перебігу захворювання.

На початку захворювання розвивається бактеріємія, тому під час лихоманкового періоду на першому етапі роботи для діагностики використовують метод гемокультури.

Впродовж першої доби проводять висів 5-10 мл крові хворого у середовище накопичення (Рапопорта), з наступними пересівами на диференційно-діагностичні середовища (Ендо, Плоскір'ова, вісмут-сульфідний агар тощо).

На другу добу середовище може мутніти внаслідок наявності сальмонел або червоніти - паратифозних паличок. В такому разі проводять пересів матеріалу на середовище Ендо, Плоскір'ова, або Левіна та інкубують його впродовж доби при $+37^{\circ}\text{C}$.

На третю добу для отримання чистої культури безбарвні колонії пересівають на середовище Реселя. Для оцінки росту колоній враховують, що внаслідок ферментації вуглеводів колір середовища змінюється. Зміна кольору всього середовища спостерігають при ферментації лактози, а лише напівскошеного стовпчика Ресселя - глюкози. В останньому разі культуру продовжують досліджувати.

Другий етап роботи полягає у проведенні ідентифікації чистої культури за:

- *морфологічними та культуральними властивостями*, тобто приготування мазків та фарбування за Грамом.

- *біохімічними властивостями*: висів на середовище Гісса та МПБ, яке інкубують 24 год при $+37^{\circ}\text{C}$; при цьому колір середовища з лактозою не змінюється, на МПБ виділяється газ (H_2S).

- *антигенною структурою*; для цього проводять реакцію аглютинації на склі з імунними полівалентним сироватками: ешеріхіозною ОВ-сироваткою (N1); сальмонельозною О-сироваткою (суміш групових адсорбованих О-сироваток серогруп А, В, С, D, E) (N2); шигельозною сироваткою (N3). При позитивній реакції аглютинації на склі з однією з полівалентних сироваток роблять висновок про родову належність культури.

Вирощена на передовищі Ресселя чиста культура аглютинується на склі полівалентною сироваткою N2, що свідчить про її належність до роду *Salmonella*.

Для встановлення належності чистої культури до певного роду також вивчають її в РА з О та Н- монорецепторними аглютинуючими сироватками для встановлення виду. Подальша серологічна ідентифікація заснована на РА на склі з монорецепторними сальмонельозними сироватками, а саме:

- О4-сироваткою (N4) до антигенної фракції О-4;
- Ні-сироваткою (N5) до антигенної фракції Н-і.

З обома сироватками культура утворює пластівці в РА на склі, тобто дає позитивну реакцію. За таблицею Кауфмана - Уйта чиста культура мікроорганізмів належить до серогрупи В, серовару *Salmonella typhimurium*, оскільки має відповідні антигенні фракції.

Схема лабораторної діагностики холери

Матеріалом досліджень слугують випорожнення, блювотні маси, патологічний анатомічний матеріал, питна вода. Перший етап полягає у проведенні бактеріоскопічного аналізу та визначення рухливості мікроорганізмів у препараті «висяча крапля». Далі застосовують бактеріологічний метод з висівом матеріалу на рідкі поживні середовища накопичення (50-100 мл): лужні 1%-на пептонна вода або 1%-на пептонна вода з телуритом калію та щільні поживні середовища (лужний МПА та ТСBS, або тіосульфат-цитрат-бромтимоловий-сахарозний агар). Через 6-8 год. з першого середовища накопичення проводять висів на лужний агар в 5-8 мл наступного середовища накопичення. Через 12-14 год. від початку

дослідження висівають на лужний агар, а ще через 18-24 год. відбирають характерні колонії S-типу з щільних середовищ і проводять висів з 1-го і 2-го середовищ накопичення.

Для серологічної ідентифікації виділеної культури проводять реакцію аглютинації на склі з холерною O1 сироваткою, далі з типовими сироватками Інаба та Огава. З негативними колоніями проводять реакцію аглютинації з атиповими сироватками O139 та RO, а згодом - пересів на лужне середовище для виділення чистої культури та середовище Ресселя для вивчення біохімічних властивостей.

Наступний етап роботи полягає у вивченні різних властивостей:

- *культуральних*, тобто характеру росту колоній;
- *біохімічних* на середовищі Ресселя, зі зміною кольору стовпчика без утворення газу і без зміни кольору скошеної частини агару внаслідок ферментації сахарози. Вібріони Ель-Тор продукують ацетон (позитивна реакція Фогеса – Проскауера). Для дослідження повного біохімічного спектру проводять висів на середовище Гісса з вуглеводами;
- *патогенних*, шляхом гемолізу (проба Грейга): вібріони Ель-Тор через 2 год. інкубації гемолізують еритроцити барана;
- *антигенної*, шляхом розгорнутої реакції аглютинації з O1-, RO – сироватками, Інаба, Огава-сироватками; штами, які аглютинують обидві сироватки, належать до серовару Гікоджима;
- *чутливості до фагів*, при якій класичний вібріон лізується холерним фагом С; холерний фаг Ель-Тор лізує виключно вібріон Ель-Тор.
- *стійкості до поліміксину*; стійкий лише вібріон Ель-Тор.

Теми доповідей:

1. Патогенез та шляхи поширення захворювань шлунково-кишкового тракту бактеріальної етіології.
2. Особливості патогенезу та шляхи поширення кишкових захворювань.
3. Сучасна класифікація бактерій родин *Enterobacteriaceae* та *Vibrionaceae*.

4. Антигени ентеробактерій, їх хімічна природа і локалізація в бактеріальній клітині.
5. Антигенні властивості холерних вібріонів.
6. Діагностика бактеріальних кишкових захворювань.
7. Препарати, які використовують для специфічної профілактики і терапії бактеріальних кишкових захворювань
8. Методи лабораторної діагностики холери.
9. Серологічні реакції, які використовують для діагностики черевного тифу та сальмонельозів.

Тестові завдання для перевірки знань

Вкажіть єдину правильну відповідь:

1. Загальний антиген мікроорганізмів кишкової групи це:

- а) О АГ;
- б) К АГ;
- в) Н АГ;
- г) Vi-антиген.

2. За типом дихання мікроорганізми кишкової групи є:

- а) облигатними анаеробами;
- б) облигатними аеробами;
- в) факультативними анаеробами;
- г) мікроаерофілами.

3. Усі мікроорганізми кишкової групи за морфологією є:

- а) Gr⁺-паличками;
- б) Gr⁻-паличками;
- в) спороутворюючими паличками;
- г) аспорогенними паличками.

4. Типовий фактор вірулентності для мікроорганізмів кишкової групи це:

- а) наявність екзотоксину;
- б) наявність ендотоксину;
- в) наявність капсули;

г) наявність пілей та адгезинів до кишкового епітелю.

5. Середовища Гісса використовують для:

- а) виділення чистої культури мікроорганізмів кишкової групи;
- б) отримання ізольованих колоній;
- в) як середовища накопичення;
- г) вивчення біохімічних властивостей мікробів кишкової групи.

Вкажіть кілька (не менше двох) правильних відповідей:

6. Місцеперебуванням *Escherichia coli* слугує:

- а) товстий кишечник;
- б) шлунок;
- в) тонкий кишечник;
- г) пряма кишка.

7. Для виділення мікроорганізмів кишкової групи використовують:

- а) ЖСА;
- б) середовище Ендо;
- в) середовище Кітта-Тароці;
- г) Левіна.

8. Сальмонели викликають наступні захворювання:

- а) черевний тиф;
- б) паратиф А та В;
- в) гастроентерити;
- г) септицемії.

9. На 2-му тижні захворювання на черевний тиф досліджують:

- а) випорожнення за допомогою бактеріологічного методу;
- б) кров бактеріологічним методом;
- в) кров серологічним методом;
- г) жовч бактеріологічним методом.

10. Для виділення холерного вібріону використовують наступні поживні середовища:

- а) 1% пептонна вода;

- б) лужный агар;
- в) середовище TCBS;
- г) кров'яний агар.

Список рекомендованої літератури.

1. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник. — 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Мед, 2004. — 816 с.
2. Покровский В. И., Черкасский Б. Л. Сальмонеллезы. — М., 1995. — С. 153.
3. Покровский В. И., Ющук Н. Д. Бактериологическая дизентерия. — М.: Медицина, 1994. — 256 с.
4. Ющук Н. Д., Бродов Л. Е. Острые инфекционные диареи // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., проктол. — 2000. — № 6. — С. 22—27.
5. Ющук Н. Д., Бродов Л. Е. Острые кишечные инфекции: диагностика и лечение — М.: Медицина, 2001. — 304 с.
6. Ющук Н. Д., Бродов Л. Е., Ахмедов Д. Р. Диагностика и дифференциальная диагностика острых кишечных инфекций. — М., 1998. — С. 169.
7. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Заразные болезни человека: Справочник. — М, 1997.
8. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Лекции по инфекционным болезням. — Т. 1, 2. — М.: ВУНМЦ

Тема: Мікробіологічна діагностика бактеріальних захворювань з переважним ураженням органів дихання.

Методичне обґрунтування теми

Студенти повинні мати уяву про:

- бактеріальні інфекції органів дихання;
- особливості життєдіяльності та поширення збудників захворювань органів дихання;
- фактор патогенності та антигенну структуру збудників;
- основні методи діагностики бактеріальних захворювань органів дихання.

Студенти повинні знати:

- загальні характеристики збудників захворювань органів дихання;
- наукові назви та класифікацію збудників захворювань;
- джерела та шляхи поширення бактеріальних захворювань;
- формування та види набутого імунітету.

Студенти повинні:

- володіти методами діагностики бактеріальних захворювань органів дихання
- визначати морфолого-культуральні, біохімічні та антигенні властивості збудників.

Мета семінарських занять на тему «Мікробіологічна діагностика бактеріальних захворювань з переважним ураженням органів дихання» - закріпити уявлення та знання, отримані під час лекцій про:

- різноманітність збудників бактеріальних захворювань;
- основні характеристики цих бактерій;
- діагностику, профілактику та лікування інфекційних захворювань органів дихання бактеріальної етіології.

Етіологічними агентами бактеріальних інфекцій дихальних шляхів слугують мікроорганізми із родів *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*. Характерною особливістю цих захворювань є ураження дітей молодшого віку, особливо тих, які відвідують дитячі колективи.

Поширення бактеріальних клітин при повітряно-краплинному механізмі передачі збудника відбувається швидкими темпами. Через це інфекційні захворювання дихальних шляхів належать до найбільш поширених. Для різних нозологічних форм характерні специфічні особливості аерозольного механізму передачі, зумовлені тропністю збудника до певних ділянок слизової оболонки дихальних шляхів, наявністю або відсутністю додаткової локалізації, вірулентністю і ступенем стійкості до умов зовнішнього середовища.

Під час епідемій довготривалість сформованого постінфекційного імунітету, а також демографічні фактори, наприклад народжуваність і міграція, призводять до зростання неімунізованого прошарку населення та зниження рівня колективного імунітету, що визначає тривалість інтервалу між підйомами захворюваності.

Наявність значної кількості хворих у легкій формі, широко поширені так звані «здорове» та постінфекційне носійства збудника, несвоєчасне звернення за медичною допомогою створюють труднощі в проведенні своєчасних лікувально-обмежувальних заходів. Ефективних засобів вповільнення миттєвого механізму передачі інфекції до цього часу не розроблено. Тому лише масова вакцинація запобігає розвитку епідемій інфекційних захворювань дихальних шляхів.

Лабораторна діагностика стрептококових інфекцій

Лабораторна діагностика стрептококових інфекцій включає бактеріологічний та серологічний методи, а при підозрі на додаткову присутність пневмококів – ще й бактеріоскопічний та біологічний. Матеріалом досліджень слугують гній, кров, сеча, слиз із горла та носа.

Бактеріоскопія мазків із дослідного матеріалу слугує лише орієнтовним методом, оскільки стрептококів практично неможливо відрізнити від інших коків. При бактеріологічному методі впродовж першої доби захворювання матеріал висівають на 5%-ний кров'яний агар для отримання ізольованих колоній. На наступну добу виявляють характерні для стрептококів дрібні безбарвні колонії із зоною гемолізу чи без неї.

Мікроскопічна характеристика дозволяє виявити в мазках грампозитивні коки, розташовані, як правило, попарно або у вигляді коротких ланцюжків. Для виділення чистої культури бактеріальні клітини висівають на цукровий бульйон чи скошену поверхню кров'яного агару.

На третю та четверту добу ідентифікують чисту культуру за:

- *морфологічними властивостями*; при фарбуванні за Грамом в полі зору помітні довгі ланцюжки клітини грампозитивних коків;

- *культуральними властивостями*; у цукровому бульйоні спостерігають придонно-пристінковий ріст колоній у вигляді пластівців або зерен без помутніння середовища;

- *за особливостями росту*; на кров'яному агарі стрептококи спричиняють різні види гемолізу: α - гемоліз – неширока зеленкувата зона навкруги колоній (за рахунок неповного розщеплення гемоглобіну утворюється білівердин зеленуватого кольору); β - гемоліз – прозора зона навкруги колоній; γ -гемоліз - середовище навколо колоній не змінюється;

- *біохімічними властивостями*;

- *антигенними властивостями*; ідентифікація виділеної культури в реакції преципітації з власним полісахаридним преципітиногеном та сироватками серогруп *A, B, C, D* і т. д. Тип серовару визначають за допомогою реакцій латекс- або коагулінації. Типування стрептококів групи *A* за наявності антигенів проводять при проведенні епідеміологічного аналізу. Типування за *T*-антигенами здійснюють в реакції аглютінації на склі з *T*-антисироватками, а за *M*-антигенами - в реакції преципітації в рідкому

середовищі з типоспецифічними адсорбованими *M*-антисироватками. Визначення чутливості до антибіотиків проводять з використанням диско-дифузного методу.

Серологічний метод діагностики застосовують у випадках хронічної інфекції, напр., для підтвердження діагнозу ревматизму, особливо, якщо у хворого внаслідок терапії антибіотиками не вдається виділити збудника. Для цього під час РЗК (реакція зв'язування комплекменту) або преципітації визначають наявність в крові стрептококового антигену та специфічних антитіл до токсинів, зокрема стрептолізину *O* та *C*-реактивного білка. В останні роки для діагностики стрептококових інфекцій також використовують полімеразно-ланцюгову реакцію (ПЛР).

При пневмококовій інфекції для виділення чистої культури проводять біопробу, заражаючи білих мишей матеріалом від хворого.

Для ентерококів на відміну від стрептококів характерні наступні діагностичні ознаки:

- здатність рости в діапазоні температур +10...45°C;
- стійкість до високих концентрацій *NaCl*;
- стійкість до дії пеніциліну;
- чутливість до лізуючої дії жовчі та жовчোকислих солей.

Лабораторні методи діагностики менінгококової інфекції

Залежно від клінічної форми матеріалом для досліджень слугують спинномозкова рідина (ліквор), слиз із зіву, носу, гній при підозрі на менінгіт; кров при підозрі на менінгококемію. Для діагностики використовують бактеріоскопічний, бактеріологічний та серологічний методи.

Результати бактеріоскопічного дослідження використовують в якості попереднього тесту, оскільки диференціювати менінгококи від інших здатних викликати менінгіт грамнегативних бактерій (гонококи, гемофіли) за морфологічними особливостями практично неможливо. Лише цей метод застосовують для діагностики зразків від трупів. Слиз із носоглотки не

підлягає мікроскопії через наявність умовно-патогенних бактерій, які за будовою дуже схожі зі збудником менінгіту. Після проведення мікроскопії ліквор засівають на сироватковий або 5%-ний кров'яний агар з ристоміцином або ванкоміцином для отримання ізольованих колоній.

На наступну добу послідовно дають макроскопічну та мікроскопічну характеристику колоній. Бактеріологічне дослідження (пересів культури на сироватковий агар) проводять з метою виділення та ідентифікації чистої культури менінгокока. Матеріал висівають на середовища, які містять сироватку, кров, асцитну рідину; висіви культивують при підвищеному вмісті CO₂. Ідентифікацію чистої культури проводять за:

- *культуральними властивостями*, коли визначають характер росту колоній на характерних поживних середовищах при різних температурних режимах, а саме: МПА, при +37 °С; сироватковий агар, при +22 °С та +37 °С; колонії резидентних нейсерій зростають на всіх трьох середовищах з утворенням пігменту

- *біохімічними властивостями*; проба з парадіетилфенілєндіаміном дозволяє виявити оксидазну активність нейссерій; на середовищах Гісса менінгококи розщеплюють глюкозу та мальтозу до молочної кислоти, а лактозу та інші вуглеводи, як правило, не розщеплюють, на відміну від резидентних видів;

- *антигенними властивостями*; за допомогою серотипування культури РПГА з еритроцитами, навантаженими антитілами (серовари *A, B, C*, рідше – *E, F, W*).

Чутливість до антибіотиків визначають диско-дифузним методом. Менінгококам властива стійкість до ристоміцину, ванкоміцину, колістину. Імуноелектрофорез, імуноферментний та радіоімунний аналізи застосовують для виявлення розчинних бактеріальних антигенів в лікворі або антитіл у сироватці крові. У хворих на менінгіт антитіла виявляють на 6...7-му добу захворювання, а їхній максимальний рівень на 2-3-й тиждень. В розпал

захворювання підвищується рівень *IgM*, особливо при генералізованих формах, а під час реконвалесценції переважає *IgG*.

Лабораторна діагностика стафілококових захворювань.

Лабораторну діагностику здійснюють бактеріологічним і серологічним методами. Бактеріологічний метод включає бактеріоскопію, виділення чистої культури збудника та його ідентифікацію із визначенням чутливості до антибіотиків та хіміопрепаратів. Матеріалом досліджень слугують кров, мокрота, фекалії. Гній підлягає бактеріоскопії; при наявності збудника у полі зору помітні поодинокі чи попарно розташовані грампозитивні коки. Після цього матеріал висівають на 7%-ний жовтково-сольовий та 5%-ний кров'яний агар для отримання ізольованих колоній. Згодом послідовно здійснюють макроскопічну та мікроскопічну характеристики колоній, які вирости на ЖСА та кров'яному агарі, з наступним пересівом на скошену поверхню середовища для отримання чистої культури.

Ідентифікацію чистої культури проводять за:

- *морфологічними властивостями*; при забарвленні за Грамом клітини розташовані у вигляді „виноградних грон” грампозитивних коків;

- *культуральними властивостями*; округлі опуклі золотисті чи лимонно-жовті колонії з рівними краями;

- *біохімічними властивостями*; для визначення ферментації манніту в анаеробних умовах, яка підтверджує належність до найагресивнішого виду *Staphylococcus aureus*, висівають культуру в середовище з маннітом. Через 18-24 год. внаслідок розщеплення маніту утворюються кислі продукти, які змінюють колір індикатора в середовищі (індикатор Андреде дає червоне забарвлення, а індикатор ВР – синє).

- *ферментами агресії*; наявності ряду ферментів, а саме:

1. Плазмокоагулаза (основна видова ідентифікаційна ознака). Для цього культуру висівають в цитратну плазму; результати обраховують через 24 год. При наявності ферменту відбувається коагуляція з утворенням згустку фібрину.

2. Лецитиназа. Культуру висівають на жовтково-сольовий агар. Висіви інкубують при +37°C впродовж 24 год.; навколо колоній з'являються зони помутніння з райдужним ореолом.

3. Гемолізін. Відмічають появу зон α або β -гемолізу навколо колоній на кров'яному агарі.

Після цього здійснюють фаготипування. Міжнародний набір фагів (21 тип) наносять на висів культури окремими краплями, попередньо розкресливши дно чашки на сектори.

Лабораторний аналіз обов'язково включає визначення чутливості виділеної культури до антибіотиків. Серологічна діагностика заснована на імунологічному дослідженні сироватки крові. Її застосовують головним чином у випадках хронічної інфекції, особливо, якщо хворий отримав потужну антибіотикотерапію і виділити збудника не вдалось. Для цього звичайно визначають титр анти- α -токсину в сироватці крові, а при необхідності - ще й титр антитіл до рибіттейхоевої кислоти.

Теми доповідей:

1. Морфологічні та культуральні властивості *Streptococcus pneumoniae*.
2. Морфологічні та культуральні властивості *Neisseria meningitidis*.
3. Джерело інфекції, шляхи передачі, входні ворота при захворюваннях, викликаних диплококами.
4. Фактори патогенності та антигенна структура стрептококів.
5. Фактори патогенності та антигенна структура збудника менінгіту.
6. Нозологічні форми захворювання при стафілококовій інфекції.
7. Порівняльна характеристика біохімічної активності і потреб у поживних середовищах для диплококів різних видів.
8. Основні методи діагностики при патологічних процесах, які викликані диплококами.
9. *S. aureus* - збудник внутрішньолікарняної інфекції.
10. Поширення менінгококової інфекції.
11. Основні методи діагностики менінгіту.

12. Перспективи застосування стафілокової вакцини.

Тестові завдання для перевірки знань

Вкажіть єдину правильну відповідь

1. Шляхи зараження стрептококовими інфекціями:

- а) фекальний;
- б) контактний;
- в) повітряно-краплинний;
- г) трансмісивний.

2. До стрептококів, які розкладають інουλін, належать:

- а) *Streptococcus pyogenes*;
- б) *Streptococcus pneumoniae*;
- в) *Streptococcus faecalis*;
- г) *Streptococcus sanguis*.

3. Пневмококи на середовищі з жовчю:

- а) зберігаються;
- б) лізуються;
- в) розмножуються;
- г) активно розмножуються.

Вкажіть кілька вірних відповідей

4. Вкажіть послідовність етапів бактеріологічного методу дослідження при стрептококовій інфекції:

- а) серотипування;
- б) бактеріоскопічне дослідження;
- в) висів на середовище «строкатого ряду»;
- г) висів для виділення чистої культури;
- д) визначення чутливості до антибіотиків.

5. Вкажіть характер імунітету, який виникає при стрептококових захворюваннях:

- а) антимікробний;
- б) противовірусний;

- в) антитоксичний;
- г) місцевий.

6. Селективні середовища, які використовують при виділенні чистої культури стафілококів:

- а) вітамінні;
- б) жовчний бульон;
- в) жовтково-сольовий анар;
- г) Кітта-Тароцці;
- д) молочно-сольовий агар;
- е) Леффлера.

7. Встановіть послідовність етапів бактеріологічного методу дослідження при стафілококовій інфекції:

- а) фаготипування;
- б) бактеріоскопічне дослідження;
- в) висів на середовище «строкатого ряду»;
- г) висів для виділення чистої культури;
- д) визначення чутливості до антибіотиків.

8. Властивості стафілококів, які зумовлюють їх вірулентність:

- а) ферментація маніту;
- б) гемоліз еритроцитів барана;
- в) коагулазна активність;
- г) каталазна активність;
- д) β -лактамазна активність.

9. Вкажіть характер імунітету, який формується при стафілококових захворюваннях:

- а) антимікробний;
- б) протівірусний;
- в) антитоксичний;
- г) місцевий.

10. Вкажіть види стрептококів, які викликають карієз зубів:

- a) *Streptococcus sanguis*;
- б) *Streptococcus mitis*;
- в) *Streptococcus mutans*;
- г) *Streptococcus anginosus*.

11. Збудниками спалахів пневмонії найчастіше слугують:

- a) *Ureoplasma urealyticum*;
- б) *Mycoplasma hominis*;
- в) *Mycoplasma pneumoniae*;
- г) *Streptococcus pneumoniae*.

12. Вкажіть тести, які входять до мікробіологічних досліджень при пневмонії:

- a) біопроба;
- б) фаготипування;
- в) серотипування;
- г) чутливість до антибіотиків.

Список рекомендованої літератури:

1. *Инфекционные болезни у детей* / Под ред. В. В. Ивановой. — М.: Мед. информ. агентство, 2002. — 924 с.
2. *Казанцев А. П., Зубик Т. М., Иванов К. С, Казанцев В. А.* Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. — М.: Мед. информ. агентство, 1999. — 482 с.
3. *Карпухин Г. И., Карпухина О. Г.* Диагностика, профилактика и лечение острых респираторных заболеваний. — СПб.: Гиппократ, 2000.
4. *Рациональная антимикробная терапия: Руководство для практических врачей.* — Т. II / Под ред. В. П. Яковлева, С. В. Яковлева. — М.: Литера, 2003.
5. *Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней (Под редакцией академика АМН СССР В.И.Покровского)* — М., Т 1, 2, 1993.

— 900 с.

6. *Ройгн А., Бростдорф Дж., Мет Д.* Иммунология. — М., 2000. — 580 с.
7. *Сенсис* в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патологоанатомическая диагностика: Практическое руководство. — М.: Изд-во НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2004. — 130 с.
8. *Сергеев В. И.* Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных и паразитарных болезней человека: проблемы и пути решения // *Эпидемиол. и инфекц. болезни.* — 2002. — № 2. — С. 54—57.
9. *Сорокина М. И., Иванова В. В., Скрипченко Н. В.* Бактериальные менингиты у детей. — М.: Медицина, 2003. — 320 с.
10. *Тартаковский И. Ч.* Современные подходы к диагностике атипичных пневмоний // *Клин, микробиол. и антимикроб, химиотер.* — 2000. — Т. 2, № 1. — С. 60—68.

Лабораторна діагностика дифтерії

При бактеріологічному методі досліджуваний матеріал (слиз та плівки з мигдалин і носу) збирають сухим стерильним тампоном і засівають на елективне диференційно-діагностичне середовище Клауберга. Паралельно з бактеріологічним застосовують бактеріоскопічний метод, а саме: готують мазок чистої культури дифтерійної палички та фарбують метиленовим синім. При мікроскопії слід звернути увагу на характерні морфологічні ознаки (обов'язково враховують результати висіву чистої культури на середовища з цистином і сечовиною - табл. 1): а) непорядковане розташування клітин (у вигляді розкиданих шпильок, пучків сіна); б) поліморфізм; в) наявність зерен волютину на кінцях палички, булаподібна форма клітин.

Таблиця 1

Диференціація коринобактерій за двома ферментами

мікроорганізм	уреаза	цистіназа
дифтерійна паличка	-	+
псевдодифтерійна паличка	+	-

Пробу на цистиназу вважають позитивною при утворенні характерного затемнення - «хмаринки» навколо темного стержня в місці уколу, а пробу на уреазу - при забарвленні середовища в малиново-червоний колір.

Визначення токсигенності культури - обов'язковий критерій для діагностики дифтерії. На середовище, розлите на чашки Петрі, накладають фільтрувальні папірці, змочені 0,25 мл антитоксичної протидифтерійної сироватки. Висів культури на середовище проводять у вигляді бляшок діаметром 0,7-0,8 см з обох сторін папірця через кожні 0,5-0,6 см. З одного боку наносять не більше 5 бляшок в ряд. Висів досліджуваних культур чергують з висівом контрольного штамму з відомою токсигенністю. Реакція базується на тому, що антиген (екзотоксин) і антитіло (антитоксична сироватка) в агарі дифундують назустріч один одному. В місці їх з'єднання утворюється лінія преципітації („вуса”). Якщо виділена культура токсигенна, то її лінія преципітації зливається з такою контрольного штаму.

Таблиця 2

Основні диференційно-діагностичні властивості коринобактерій

Вид коринобактерій	Каталаза	Ферментація						Редукція нітратів
		ГЛЮКОЗИ	МАЛЬТОЗИ	САХАРОЗИ	КРОХМАЛ	ЦИСТИНУ	СЕЧОВИНИ	
<i>C. diphtheriae gravis</i>	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>C. d. mitis</i>	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. d. intermedius</i>	+	+	+	-	-	+	-	+

<i>C. d.belfanti</i>	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>C. ulcerans</i>	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	+	-	-	-	-	-	+	+/-
<i>C. xerosis</i>	+	+	+	+	-	-	-	+/-
<i>C. pseudotuberculosis</i>	+	+	+	+/-	-	+	+	+/-
<i>C. jeikeium</i>	+	+/-	-	-	-	-	-	-

Теми доповідей:

1. Морфологічні та культуральні особливості збудника дифтерії.
2. Фактори патогенності та антигенна структура *Corynebacterium diphtheria*.
3. Епідеміологія збудника дифтерії.
4. Дифтерійний токсин, його властивості, вплив на тварин та людину.
5. Методи визначення токсигенності *Corynebacterium diphtheria*.
6. Ідентифікація чистої культури. Відмінні ознаки дифтерійної палички від інших коринебактерій (псевдодифтерійної палички та дифтероїдів).
7. Препарати для специфічної профілактики та лікування дифтерії.
8. Перспективи використання протидифтерійної вакцини.

Тестові завдання для перевірки знань

Вкажіть одну правильну відповідь:

1. Токсигенність дифтерійної палички визначають за допомогою реакції:

- а) аглютинації на склі;
- б) гемаглютинації;
- в) кільцепреципітації;
- г) преципітації в агарі.

2. Профілактику дифтерії здійснюють введенням:

- а) анатоксину;

- б) антиксину;
- в) токсину Шика;
- г) БЦЖ.

3. Мікроскопію збудника дифтерії проводять:

- а) при забарвленні за Цилем-Нельсеном;
- б) в темному полі зору;
- в) при забарвленні за Нейссером;
- г) негативним способом.

Вкажіть кілька правильних відповідей:

4. Джерелом інфекції при дифтерії слугують:

- а) хворі люди;
- б) люди-бактеріоносії;
- в) мурчаки;
- г) комахи-переносники.

5. Морфологічними особливостями збудника дифтерії слугують:

- а) поліморфізм;
- б) характерне розташування клітин у мазку з чистої культури;
- в) булавоподібна форма клітин;
- г) наявність джгутиків.

6. При діагностиці дифтерії проводять висів досліджуваного матеріала на середовища:

- а) Ендо;
- б) Левіна;
- в) Клауберга;
- г) Плоскіррова.

7. Дифтерійні штами, які здатні викликати захворювання, мають бути:

- а) лізогенними;
- б) нелізогенними;
- в) токсигенними;

г) капсулоутворюючими.

8. Послідовність етапів бактеріологічного методу дослідження дифтерії:

- а) визначення токсигенності;
- б) висів досліджуваного матеріалу на специфічні середовища;
- в) вивчення біохімічних властивостей;
- г) вивчення морфологічних та тинкторіальних властивостей;

9. За культивування збудник дифтерії потребує:

- а) підвищеної концентрації NaCl;
- б) наявності глюкози;
- в) наявності крові;
- г) наявності сироватки.

10. Основні тести, які використовують для ідентифікації дифтерійної палички:

- а) проба на цистиназу;
- б) проба на індол;
- в) проба на уреазу;
- г) проба на H₂S.

11. Шляхи передачі інфекції при дифтерії:

- а) аліментарний;
- б) контактний;
- в) повітряно-краплинний;
- г) статевий.

Список рекомендованої літератури:

1. Богомолов Б. П. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. — М.: ООО «Дизайн Пресс», 2000. — 232 с.
2. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология — М., 2002. — 733 с.
3. Борисов Л., Б., Козьмин-Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С. Руководство к

- лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии — М., 1993. — 239 с.
4. Борисов Л.Б., Смирнова А.М., Фрейдлин М.С. и др. Медицинская микробиология. — М., 1994. — 520 с.
 5. Венгеров Ю. Я., Мигманов Т. Э., Нагибина М. В. Инфекционные болезни: Серия «Справочник практического врача». — М.: Энциклопедия», 2004. — 496 с.
 6. Венгеров Ю. Я. Неотложные состояния в клинике инфекционных болезней: Лекции для практических врачей // XI Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство», Общерос. общ. фонд «Здоровье человека». — М., 2005. — С. 244—258.
 7. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Широкобоков В.П. Медицинская и санитарная микробиология. — М., 2003. — 466 с.
 8. Золотарев А.Г., Дармов И.В., Пименов Е.В. Возбудители особо опасных инфекционных заболеваний бактериальной природы. Морфология и ультраструктура. — М.: Медицина, 2006. — 267 с.
 9. Карпухин Г. И., Карпухина О. Г. Диагностика, профилактика и лечение острых респираторных заболеваний. — СПб.: Гиппократ, 2000.
 10. Карпухин Г. И. Грипп: Руководство для врачей. — СПб., 2001.
 11. Турьянов М. Х., Беляева Н. М., Царегородцев А. Д. Дифтерия. — М.: Медикас, 1996. — 256 с.

Лабораторна діагностика туберкульозу

Виявлення мікобактерій в патологічному матеріалі має вирішальне значення при лабораторній діагностиці, прогнозу перебігу захворювання і оцінки ефективності протитуберкульозної терапії. Особливе значення має диференціація мікобактерій туберкульозу і мікобактерій, які викликають мікобактеріози.

Мікроскопічне дослідження вказує лише на саму наявність кислотостійких бактерій в матеріалі без встановлення їх видової належності. Матеріал: мокротиння, сеча, спинномозкова рідина. Для попередньої обробки мокротиння застосовують методи гомогенізації і флотації. При фарбуванні мазків за Цилем-Нельсеном туберкульозні палички забарвлюються в яскраво-червоний колір, розташовуються поодинокі або невеликими скупченнями.

Бактеріологічне дослідження. Для звільнення від супутньої мікрофлори матеріал обробляють 10%-ною сірчаною кислотою або 4-6%-ним розчином їдкою натрію та центрифугують. Кислоту нейтралізують, а матеріал засівають у кілька пробірок із середовищами Левенштейна-Йєнсена або Сотона.

Висіви інкубують при +37°C впродовж 4-6 тижнів або довше, оскільки туберкульозна паличка розмножується дуже повільно. На ріст *M. tuberculosis* на середовищі вказує поява сіруватого чи світло-кремового зморшкуватого чи крихтоподібного сухого наліту.

При ідентифікації культури найчастіше визначають її здатність синтезувати нікотинову кислоту (ніацинова проба Конно). За допомогою цього критерію вдається відрізнити палички *M. tuberculosis*, що добре синтезують нікотинову кислоту, від *M. bovis*, які утворюють її в мінімальних кількостях.

Для швидкої діагностики туберкульозу застосовують метод мікрокультур Прайса. Для цього на кілька предметних скелець наносять товсті мазки досліджуваного матеріалу. Їх обробляють 2-6%-ною сірчаною кислотою і нейтралізують лугом, після цього вміщують до флаконів із гемолізованою цитратною кров'ю. Через 7...14 діб мазки фарбують за Цилем-Нельсеном і проводять мікроскопію – вірулентні штами утворюють мікрокультури у вигляді джгутиків (корд-фактор). Визначення чутливості до антибіотиків і хіміотерапевтичних препаратів здійснюють шляхом серійних розведень.

Біологічний метод слугує для виділення чистої культури збудника із органів штучно заражених тварин та визначення ступеня вірулентності мікобактерій. Матеріал обробляють сірчаною кислотою для звільнення від сторонньої мікрофлори, нейтралізують і вводять підшкірно мурчакам та кролям з негативними туберкуліновими реакціями. Через 4 місяці тварин вбивають та проводять макро- і мікроскопічне дослідження органів і проводять висів на середовище. *M. tuberculosis* високопатогенні для мурчаків і малопатогенні для кролів, а *M. bovis* високопатогенні виключно для кролів.

Серологічну діагностику (РЗК і РПГА) використовують в якості допоміжних тестів. Позитивні результати відмічені при активному туберкульозі, а також при інфікуванні і вакцинації.

Шкірно-алергічну пробу проводять з туберкуліном – очищеною білковою фракцією, отриманою із мікобактерій, для оцінки перебігу патологічного процесу, визначення ефективності вакцинації та підбору людського контингенту для ревакцинації. Туберкулін вводять внутрішньошкірно у ретельно визначеному дозуванні (реакція Манту). Результати визначають через 24-48 год за гіперемією шкіри і утворенню папули.

Специфічна профілактика. Вакцина *BCG* - це жива, ліофільно висушена культура штаму *M. bovis*, отриманого французькими вченими Кальметтом і Гереном. Її внутрішньошкірно застосовують для активної специфічної профілактики туберкульозу.

Теми доповідей:

1. Мікобактерії та мікобактеріози.
2. Морфологічні та культуральні властивості *Mycobacterium tuberculosis*.
3. Фактори патогенності та антигенна структура збудника туберкульозу.
4. Формування імунітету після туберкульозу.
5. Особливості мікробіологічної та серологічної діагностики туберкульозу.
6. Препарати для специфічної профілактики туберкульозу.

Тестові завдання для перевірки знань

Вкажіть кілька правильних відповідей:

1. При діагностиці туберкульозу найчастіше використовують методи дослідження:

- а) бактеріоскопічний;
- б) алергічний;
- в) серологічний;
- г) бактеріологічний;
- д) біологічний.

2. Факторами вірулентності збудника туберкульоза є:

- а) капсула;
- б) корд-фактор;
- в) екзотоксин;
- г) ліпіди клітинної стінки.

3. Джерелом інфекції при туберкульозі є:

- а) хвора людина;
- б) людина-бактеріоносій;
- в) хвора тварина;
- г) комаха-переносник.

4. Для культивування збудника туберкульозу використовують поживні середовища:

- а) Левенштейна-Йенсена;
- б) Левіна;
- в) Петраньяні;
- г) Клауберга.

5. Шляхи передачі збудника туберкульозу:

- а) повітряно-крапельний;
- б) статевий;
- в) повітряно-пиловий;
- г) трансмісивний.

6. Пробу Манту проводять для:
- а) встановлення осіб, для яких необхідна ревакцинація;
 - б) з лікувальною метою;
 - в) профілактики туберкульозу;
 - г) контролю ефективності лікування.
7. Для фарбування мікробактерій використовують метод:
- а) Бурі-Гіса;
 - б) Циля-Нельсена;
 - в) Леффлера;
 - г) Романовського-Гімза.

Список рекомендованої літератури.

1. *Богданова М. Б., Черненко Т. В.* Алгоритмы и организация антибиотикотерапии. — М.: Издат. Дом Видар-М., 2004.
2. *Богомолов Б. П.* Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. — М.: ООО «Дизайн Пресс», 2000. — 232 с.
3. *Инфекционные* болезни: Руководство для врачей / Под ред. В. И. Покровского. — М.: Медицина, 1996. — 528 с.
4. *Инфекционные* болезни у детей / Под ред. В. В. Ивановой. — М.: Мед. информ. агентство, 2002. — 924 с.
5. *Казанцев А. П., Зубик Т. М., Иванов К. С., Казанцев В. А.* Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. — М.: Мед. информ. агентство, 1999. — 482 с.
6. *Карпухин Г. И., Карпухина О. Г.* Диагностика, профилактика и лечение острых респираторных заболеваний. — СПб.: Гиппократ, 2000.
7. *Шлоссберт Д., Шулман И. А.* Дифференциальная диагностика инфекционных болезней: Пер. с англ. — М. — СПб.: БИНОМ — «Невский Диалект», 2000. — 320 с.

8. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Заразные болезни человека: Справочник. — М, 1997.
9. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Лекции по инфекционным болезням. — Т. 1, 2. — М.: ВУНМЦ, 1999.
10. Ющук Н. Д., Венгеров Ю. Я. Инфекционные болезни: Учебник. — М.: Медицина 2003. — 544 с.
11. Яковлев В. П., Пайдейская Е. Н., Яковлев С. В. Ципрофлоксацин в клинической практике. — М.: Информэлектро, 2000. — 272 с.
12. Яковлев С. В., Яковлев В. П. Антимикробная химиотерапия в таблицах Consilium medicum. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 4—50.

Тема: Діагностика бактеріальних інфекцій з переважним ураженням уrogenітального тракту

Студенти повинні мати уяву про:

- бактеріальні інфекції органів сечостатевої системи;
- особливості життєдіяльності та поширення збудників;
- фактор патогенності та антигенну структуру збудників;
- основні методи діагностики бактеріальних захворювань органів сечостатевої системи.

Студенти повинні знати:

- загальні характеристики збудників захворювань органів сечостатевої системи;
- наукові назви та класифікацію збудників;
- джерела та шляхи поширення бактеріальних захворювань;
- формування та види набутого імунітету.

Студенти повинні:

- володіти методами діагностики бактеріальних захворювань органів сечостатевої системи;
- розрізняти морфолого-культуральні, біохімічні та антигенні властивості збудників.

Мета семінарських занять на тему «Мікробіологічна діагностика бактеріальних захворювань з переважним ураженням уrogenітального тракту» - закріпити уявлення та знання, отримані під час лекцій про:

- різноманітність збудників бактеріальних захворювань уrogenітального тракту;
- основні характеристики збудників;
- діагностику, профілактику та лікування бактеріальних захворювань органів уrogenітального тракту.

До бактеріальних захворювань з контактним механізмом передачі через зовнішні покриви та слизові оболонки належать: гонорея, сифіліс та ін.

Хронічний перебіг цих інфекцій супроводжується довготривалою персистенцією збудника в крові, шкіряних покривах та слизових оболонках. Передача збудників відбувається при потраплянні на пошкоджені шкіряні та слизові покриви (прямий контакт) та через предмети побуту (непрямий контакт). Висока сприйнятливість населення до венеричних захворювань та їх широке поширення становлять не лише медичну, але й соціальну проблему.

Лабораторна діагностика гонореї

Основний методом діагностики гострої форми гонореї слугує бактеріоскопічний. Із матеріалу готують два мазки, один з яких фарбують за Грамом, інший – метиленовим синім. За наявності збудника всередині лейкоцитів помітні грамнегативні диплококи.

Бактеріологічні дослідження проводять у випадках, коли гонококи в мазках не виявляють. Культуральний метод дозволяє виявити гонококи практично в усіх інфікованих. Матеріалом слугують гнійні виділення з уретри, прямої кишки, внутрішніх жіночих статевих органів.

При хронічній гонореї гонококи знаходяться поза клітиною в атипових дрібних кулястих формах, які не діагностують бактеріоскопічним методом. Тому для діагностики цієї форми гонореї застосовують бактеріологічний та серологічний методи.

Серологічний метод у формі реакції РЗК використовують за відсутності патологічних виділень, а саме виявлення антитіл в сироватці крові за допомогою певного антигену - завіси із мертвих гонококів (Табл. 3). Також застосовують імунофлюоресцентні дослідження та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР).

Схема реакції зв'язування комплементу за Борде-Жангу

Компоненти реакції	1	2	3
	(дослід)	(контроль АГ)	(контроль АТ)
Сироватка	0,5	-	0,5
Антиген у робочій дозі	0,5	0,5	-
Комплемент у робочій дозі	0,5	0,5	0,5
Фізіологічний розчин	-	0,5	0,5
на 45 хв в термостат			
Гемолітична система	1,0	1,0	1,0
на 45 хв в термостат			
Облік результатів	-	гемоліз	гемоліз

Облік результатів реакції розпочинають з контрольних пробірок; за наявності в них гемолізу результат реакції враховують по дослідній пробірці.

Теми доповідей:

1. Морфологічні та культуральні властивості *Neisseria gonorrhoea*.
2. Фактори патогенності та антигенна структура збудника гонореї.
3. Епідеміологія збудника гонореї.
4. Особливості мікробіологічної та серологічної діагностики гострої та хронічної форм гонореї.
5. Препарати для специфічної профілактики гонореї.

Тестові завдання для перевірки знань**Вкажіть лише правильну відповідь:**

1. Виберіть метод для лабораторної діагностики гострої гонореї:
 - а) бактеріологічний;
 - б) біологічний;
 - в) мікроскопічний;

- г) серологічний.
2. Збудник гонореї належить до роду:
- а) *Neisseria*;
 - б) *Bacillus*;
 - в) *Staphylococcus*;
 - г) *Streptococcus*.

Вкажіть кілька правильних відповідей:

3. Вкажіть характерні морфологічні ознаки гонококів:
- а) Грампозитивні диплококи;
 - б) мають бобовидну форму;
 - в) мають пілі;
 - г) Грамнегативні диплококи.
4. Виберіть методи лабораторної діагностики хронічної гонореї:
- а) мікроскопічний;
 - б) серологічний;
 - в) бактеріологічний;
 - г) біологічний.
5. Фактор, який визначає здатність *Neisseria gonorrhoeae* інфікувати епітелій уретри:
- а) утворення ферментів, які розщеплюють молекули Ig;
 - б) антифагоцитарна дія капсульних полісахаридів;
 - в) стійкість *N. gonorrhoeae* до бактеріальних факторів сироватки крові;
 - г) наявність пілей, які зумовлюють адгезію бактерій до епітеліальних клітин.
6. Виберіть тести, які застосовують при бактеріологічному методі діагностики гонореї:
- а) тестування колоній на оксидазу;
 - б) стійкість культури до ристоміцину;
 - в) РЗК;
 - г) ІФА.

7. Вкажіть грамнегативні бактерії, здатні викликати уретрити:

а) *Neisseria (Branhamella) catarrhalis*;

б) *Neisseria meningitidis*;

в) *Ureoplasma urealyticum*;

г) *Mycoplasma hominis*.

8. Для фарбування гонококів використовують метод фарбування:

а) за Грамом;

б) метиленовим синім;

в) за Лефлером;

г) за Романовським-Гімза.

Список рекомендованої літератури

1. Бокалова Л. А. Урогенитальный хламидиоз, трихомониаз //Лечащий врач. — 2001. — № 4. — С. 30—32.
2. Богомолов Б. П. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. — М.: ООО «Дизайн Пресс», 2000. — 232 с.
3. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции: Пер. с англ. / Под ред. А. Гриноу, Д. Осборна, Ш. Сазерленд. — М.: Медицина, 2000. — 288 с.
4. Иерусалимский А. П. Клещевой энцефалит: Руководство для врачей. — Новосибирск, 2001. — 360 с.
5. Масюкова С. А., Гладько В. В. Некоторые вопросы лечения и профилактики инфекций, передающихся половым путем в современных условиях // Болезни репродуктивной системы. — М.: Медицина, 2004. — № 3(6). — С. 35.
6. Машикеллейсон А. Л. Диагностика и лечение урогенитального хламидиоза. — М., 2000.
7. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник / Под ред. А. А. Воробьева. — М.: Мед. информ. агентство, 2004. — 691 с.

8. *Медуницин Н. В.* Лечебные вакцины и иммунотерапия инфекционных болезней // Эпидемиол. и инфекц. болезни. — 2002. — № 4. — С. 52—56.
9. *Поздеев О. К.* Медицинская микробиология /Под ред. В. И. Покровского. — 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Мед, 2004. — 768 с.
10. *Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И., Данилкин Б. К.* Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник. — 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Мед, 2004. — 816 с.

Лабораторна діагностика сифілісу

Залежно від стадії захворювання для діагностики застосовують бактеріологічний і серологічний методи. Бактеріоскопічні дослідження проводять при первинному сифілісі та під час висипань при вторинному. Матеріалом слугують виділення з твердого шанкра, пунктати лімфатичних вузлів, рідини з висипань на шкірі. Через низький вміст нуклеопротейдів блідні трепонеми погано забарвлюються аніліновими барвниками, тому їх виявляють і вивчають в нативних препаратах в темному полі зору. Мазки також можна фарбувати за методом Романовського-Гімзи або застосовувати імпрегнацію сріблом.

Серологічний метод

З 4-го тижня від моменту появи твердого шанкру розпочинається серопозитивний період захворювання; тоді для діагностики починають застосовувати неспецифічні і специфічні серологічні реакції. До них належать:

1. Неспецифічні (реагінові) тести, коли в якості антигену використовують кардіоліпіновий антиген (холестеринізований спиртовий екстракт з м'язів серця бика): реакції зв'язування комплекменту Вассермана та мікропреципітації.

2. Специфічні (трепонемальні) тести застосовують для виявлення в сироватці крові хворих антитіл до трепонемального антигену (живі та вбиті трепонеми, екстракт із останніх). В якості антигену використовують:

а) трепонема Рейтера – невірулентні спірохети, вирощені на штучному поживному середовищі;

б) трепонеми Нікольса або тканинні – патогенні спірохети, отримані від штучно інфікованих кролів.

Із трепонемальних тестів найчастіше застосовують імунофлюоресцентний адсорбційний тест (ІФАТ) та трепонемальну мікрогемаглютинацію. В обох випадках сироватку хворого адсорбують трепонемами Рейтера для видалення антитіл до загальних для всіх видів спірохет антигенів. В якості антигена в ІФАТ використовують трепонеми Нікольса, а при мікрогемаглютинації – еритроцити з сорбованими на них антигенами трепонеми Нікольса.

РІФ – реакція імунофлюоресценції (непрямий метод).

Із штаму трепонем Нікольса готують мазок, на який наносять сироватку пацієнта. Присутні в сироватці АТ зв'язуються зі спірохетами, утворюючи комплекс АГ-АТ. Для виявлення останнього використовують антиглобулінову люмінісцентну сироватку. Її отримують при імунізації кроля сироваткою людини, в якій містяться антитіла з флюорохромом.

Таким чином, проводять непряму РІФ з відповідними компонентами:

- флюорохром;
- антиглобулінові антитіла (сироватка кроля, імунізованого Іg людини);
- сироватка людини;
- штам трепонем Нікольса.

Якщо в сироватці хворого присутні антитіла, утворюється комплекс із трьох компонентів, який світиться під мікроскопом.

Реакція гемаглютинації

Для проведення реакції використовують еритроцити, до поверхні яких прикріплені антигени *Treponema pallidum*. Якщо в сироватці хворого

присутні антитіла до збудника, то при її додаванні до еритроцитів останні злипаються.

Постановка реакції Васермана

Для здійснення реакції Васермана необхідно:

1. Сироватку хворого в розведенні 1:5 прогрівають впродовж 30 хв при температурі +56° для інактивації комплементу.

2. Додати неспецифічний (кардіоліпіновий) антиген - холестеринізований спиртовий екстракт із серцевого м'яза бика.

3. Додати комплемент - сироватку мурчака в робочій концентрації (титр, збільшений на 25-30%). Титр – це мінімальна кількість комплементу, при якій відбувається гемоліз. Збільшення титру необхідне для підтримки активності комплементу, яку пригнічують іншими інгредієнтами (спиртовий антиген тощо).

4. Гемолітична система – це суміш гемолітичної сироватки та еритроцитів барана, яку перед постановкою РЗК витримують у термостаті при +37°С впродовж 30 хв, призначена для адсорбції гемолізину та поверхні еритроцитів.

Реакцію Васермана проводять за загальноприйнятою методикою РЗК.

Відсутність гемолізу підтверджує позитивну реакцію Васермана, а його наявність трактують як негативну реакцію.

Таблиця 4

Схема проведення реакції Васермана

Компоненти реакції	№ пробірки		
	1 (дослід)	2 (контроль АГ)	3 (контроль АТ)
Інактивована сироватка (1:5)	0,5	–	0,5
Кардіоліпіновий антиген у	0,5	0,5	–

робочій дозі			
Комплемент (у робочій дозі)	0,5	0,5	0,5
Фізіологічний розчин	–	0,5	0,5

Інкубація за температури +37°C впродовж 40 хв.

Гемолітична система (завіса еритроцитів барана + гемолітична сироватка)	1,0	1,0	1,0
---	-----	-----	-----

Інкубація за температури 37°C впродовж 40 хв.

Облік результатів		Гемоліз +	Гемоліз +
-------------------	--	-----------	-----------

Результат реакції оцінюють за ступенем затримки гемолізу: ++++ (різкопозитивна реакція, тобто повна відсутність гемолізу); +++ (позитивна реакція); ++ та + (слабкопозитивна реакція); - (негативна реакція).

Теми доповідей:

1. Спірохетози. Основні роди та види спірохет.
2. Морфологічні та культуральні властивості *Treponema pallidum*.
3. Фактори патогенності та антигенна структура збудника сифілісу.
4. Трепонемі Рейтера і Нікольса.
5. Джерело інфекції та шляхи передачі збудника.
6. Особливості мікроскопічного методу діагностики сифілісу.
7. Особливості серологічного методу діагностики сифілісу.
8. Препарати для специфічної профілактики сифілісу.
9. Трепонемальні реакції: імунофлюоресцентний адсорбційний тест, мікрогемаглютинаційний трепонемальний тест.

Тестові завдання для перевірки знань

Вкажіть лише правильну відповідь:

1. Мікроскопію збудника сифілісу проводять:
 - а) при фарбуванні за Грамом;
 - б) в темному полі зору;
 - в) при фарбуванні за Цилем-Нельсенном;
 - г) при фарбуванні за Нейсером.
2. Джерелом інфекції при сифілісі слугує:
 - а) хвора людина;
 - б) людина-бактеріоносій;
 - в) кріль;
 - г) комаха - переносник.
3. В реакції Васермана з кардіоліпіновим антигеном виявляють:
 - а) реакіни;
 - б) цитокіни;
 - в) опсоніни;
 - г) інтерлейкіни.
4. Збудник сифілісу має форму:
 - а) диплокока;
 - б) вібріону;
 - в) спірохети;
 - г) спірили.
5. При діагностиці сифілісу на початковій стадії захворювання досліджують:
 - а) кров;
 - б) сечу;
 - в) вміст твердого шанкру;
 - г) фекалії.
6. Для культивування збудника сифілісу проводять:
 - а) посів на кров'яний агар;
 - б) інфікування мишей;

- в) інфікування кроля;
- г) інфікування платяних вошей.

7. При трепонемальних тестах використовують:

- а) кардіоліпіновий антиген;
- б) спірохети з тканин кроля;
- в) спірохети з поживного середовища;
- г) вміст твердого шанкру.

Вкажіть кілька правильних відповідей:

8. На другій стадії захворювання на сифіліс застосовують методи діагностики:

- а) бактеріоскопічний;
- б) бактеріологічний;
- в) серологічний;
- г) біологічний.

9. До трепонемальних тестів належать:

- а) реакція імунофлюоресценції;
- б) реакція іммобілізації трепонем;
- в) реакція Васермана;
- г) реакція мікропреципітації.

10. При третинному сифілісі використовують такі методи діагностики:

- а) бактеріоскопічний;
- б) бактеріологічний;
- в) серологічний;
- г) молекулярно-генетичний.

11. При діагностиці сифілісу в третинному періоді захворювання досліджують:

- а) пунктат з гуми;
- б) зішкріб із розеол;
- в) вміст твердого шанкру;
- г) ліквор.

Список рекомендованой літератури

1. *Антибактериальная терапия: Практическое руководство* / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — М., 2000.
2. *Венгеров Ю. Я., Мигманов Т. Э., Нагибина М. В.* Инфекционные болезни: Серия «Справочник практического врача». — М.: «Энциклопедия», 2004. — 496 с.
3. *Венгеров Ю. Я.* Неотложные состояния в клинике инфекционных болезней: Лекции для практических врачей // XI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Общероссийский общественный фонд «Здоровье человека». — М., 2005. — С. 244—258.
4. *Кожные и венерические болезни: Справочник* / Под ред. О. Л. Иванова. — М.: Медицина, 2004. — 352 с.
5. *Масюкова С. А., Гладько В. В.* Некоторые вопросы лечения и профилактики инфекций, передающихся половым путем в современных условиях // *Болезни репродуктивной системы*. — М.: Медицина, 2004. — № 3(6). — С. 35.
6. *Машкиллейсон А. Л.* Диагностика и лечение урогенитального хламидиоза. — М., 2000.
7. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник* / Под ред. А. А. Воробьева. — М.: Мед. информ. агентство, 2004. — 691 с.
8. *Медуницин Н. В.* Лечебные вакцины и иммунотерапия инфекционных болезней // *Эпидемиол. и инфекц. болезни*. — 2002. — № 4. — С. 52—56.
9. *Фаучи Э., Браунвальд Ю. и др.* Внутренние болезни: Пер. с англ. — В 10 книгах / *Инфекционные болезни: Книга 3*. — М.: Медицина, 2005. — 605 с.
10. *Черкасский Б. Л.* Руководство по общей эпидемиологии. — М.: Медицина, 2001. — 506 с.